

Universidad de Cuenca



Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Ingeniería Química

“Validación del método para determinar materia orgánica en el suelo por la técnica de Walkley And Black”

Trabajo de titulación previo
a la Obtención del Título de
Ingeniero Químico

Autor:

Cristian Andrés Guamán Arpi
C.I. 0104793500

Directora:

Mg. Sonia Margoth Astudillo Ochoa
C.I. 0104044474

Cuenca - Ecuador

2018



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es validar el método de análisis de materia orgánica en suelos por la técnica de Walkley Black.

En la actualidad el Laboratorio de Suelos perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca ha planteado objetivos de validación para análisis, por lo que un método a validar es el de materia orgánica bajo las recomendaciones de los institutos de acreditación para el cumplimiento de la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005, por lo que este trabajo demostró que el método usado se ajusta adecuadamente a sus requisitos, para obtener resultados confiables y precisos.

En el Laboratorio de Análisis de Suelos se realizaron una serie de ensayos, los mismos confirmaron características técnicas del método empleado en el análisis tales como repetitividad, reproducibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y análisis de ANOVA.

Además, los resultados obtenidos en la validación del método analítico planteado han sido comparados con el resultado de otro laboratorio de análisis de suelos con técnicas y métodos validados y que esté acreditado. Por otro lado, debido a las limitaciones de tiempo de trabajo se excluye el cálculo de la incertidumbre.

El resultado de los análisis junto con los objetivos establecidos en el trabajo indicó que el método de ensayo para la determinación de Materia Orgánica en una muestra de suelo por la técnica de Walkley Black se declara validado con éxito.

Palabras Clave: Análisis, Suelo, Validación, Materia Orgánica, Walkley Black.



ABSTRACT

This work aims to objective validate the method of analysis of organic matter in soils by the Walkley Black technique.

Currently the soil laboratory of the faculty of Chemical Sciences of the University of Cuenca has set validation objectives for analysis, so a method to validate is the organic matter under the recommendations of the accreditation institutes for compliance with the standard NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005, but this work must prove that the method used is adjusted to their requirements, to obtain reliable and accurate results.

In the soil analysis laboratory they made a series of tests that confirm the technical characteristics of the method used in the analysis such as repeatability, reproducibility, detection limit, quantification limit and ANOVA analysis.

Also, the results obtained in the validation of the analytical method proposed have been compared with the results of another laboratory of soil analysis with validated techniques and methods and that this be accredited. On the other hand, due to the limitations of working time, the calculation of uncertainty is excluded.

The results of analysis together with the objectives established in this work indicate if the test method for the determination of Organic Matter in a soil sample by the Walkley Black technique is declared successfully validated.

Key Words: Analysis, Soil, Validation, Organic Matter, Walkley Black.



TABLA DE CONTENIDO

Resumen	2
Introducción	11
Justificación	13
Objetivos.....	14
Objetivo General.....	14
Objetivos Específicos.....	14
CAPITULO 1	
1.1. El Suelo	15
1.1.1. Importancia del suelo	15
1.1.2. Composición del suelo	16
1.1.3. Propiedades del suelo	17
1.2. Materia Orgánica	20
1.2.1. Importancia de la materia orgánica en el suelo	21
1.2.2. Efecto de la materia orgánica sobre las propiedades físicas del suelo	21
1.2.3. Efecto de la materia orgánica sobre las propiedades químicas del suelo ..	22
1.2.3. Efecto de la materia orgánica sobre las propiedades biológicas del suelo	22
1.2.5. Variabilidad del contenido de materia orgánica en el suelo	22
1.2.6. Relación Carbono - Materia Orgánica	23
1.2.7. Métodos para Determinación de Materia Orgánica	24
1.3. Fundamentos Generales del Análisis Volumétrico	25
1.3.1. Características de una reacción Volumétrica.....	26
1.3.2. Clasificación de los métodos volumétricos de análisis.....	27
1.3.2.1. Volumetría de neutralización	27
1.3.2.2. Volumetría de precipitación	27
1.3.2.3. Volumetría de óxido-reducción	27
1.3.2.4. Volumetría de formación de complejos	28
1.4. Validación de métodos analíticos.....	28
1.5. Características de desempeño de un método analítico.....	29
1.5.1. Media	29
1.5.2. Desviación Estándar	29
1.5.3. Desviación Estándar Relativa.....	29



1.5.4. Error Absoluto	29
1.5.5. Error Relativo Porcentual	30
1.5.6. Exactitud	30
1.5.7. Veracidad.....	30
1.5.8. Precisión	30
1.5.9. Repetibilidad	31
1.5.10. Reproducibilidad	31
1.5.11. Límite de Detección.....	31
1.5.12. Límite de Cuantificación	31

CAPITULO 2

2.1. Etapas preliminares para la realización del método	33
2.2. Elección del método.....	34
2.3. Descripción del método.....	34
2.3.1. Reacciones Involucradas	35
2.3.2. Potencial Redox	35
2.3.3. Interferencias Químicas	36
2.4. Toma de muestras.....	36
2.5. Secado y Tamizado	38
2.6. Reactivos, Materiales y Equipos	38
2.7. Preparación de Reactivos	39
2.8. Procedimiento.....	39
2.9. Flujograma del procedimiento del método de Walkley Black.....	40
2.10. Objetivos para validación del método.....	41
2.11. Determinaciones.....	41
2.11.1. Cálculo de la Exactitud.....	43
2.11.2. Cálculo del Límite de Detección	44
2.11.3. Cálculo del Límite de Cuantificación.....	44
2.11.4. Cálculo de la Repetibilidad	44
2.11.5. Cálculo de la Reproducibilidad	45
2.11.6. Cálculo de la Linealidad	46
2.11.7. Cálculo del Error Relativo Porcentual	46

CAPITULO 3

3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
3.1.1. Límites de Detección y Cuantificación	47
3.1.2. Exactitud	47
3.1.3. Precisión	47
3.1.3. Clasificación del Suelo	49



CAPITULO 4

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
Bibliografía	52
Anexo I: Análisis de suelo	55
Anexo II: Fotos	57
Anexo III: Documento de Acreditación de la Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.	61
Anexo IV: Procedimiento Específico de Ensayo	74

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Reactivos, Materiales y Equipos.....	38
Tabla II. Objetivos para validación del método	41
Tabla III. Volumen gastado (ml) de Sulfato Ferroso Amoniacal	41
Tabla IV. Contenido en porcentaje de Materia Orgánica	42
Tabla V. Resultado Valor verdadero y Valor experimental	43
Tabla VI. Resultado Media y Desviacion Estándar	44
Tabla VII. Resultado de la Repetibilidad.....	45
Tabla VIII. Resultado de la Reproducibilidad	45
Tabla IX. Análisis ANOVA	48
Tabla X. Resultado análisis ANOVA.....	48
Tabla XI. Comparación de los objetivos con resultados obtenidos	49
Tabla XII. Clasificación del suelo según el contenido de Materia Orgánica	49



Cláusula de Licencia y Autorización para la publicación en el Repositorio Institucional

Yo, *Cristian Andrés Guamán Arpi* en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Validación del método para determinar materia orgánica en el suelo por la técnica de Walkley And Black", de conformidad con el Art. 114 del CODIGO ORGANICO DE LA ECONOMIA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACION reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Octubre del 2018

Cristian Andrés Guamán Arpi

C.I: 0104793500



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, *Cristian Andrés Guamán Arpi*, autor del trabajo de titulación "Validación del método para determinar materia orgánica en el suelo por la técnica de Walkley And Black", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, Octubre del 2018

Cristian Andrés Guamán Arpi

C.I: 0104793500



DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mi amada esposa, por su apoyo permanente, comprensión y ánimo que me brinda día tras día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales.

También a mis adorados hijos Nicolás, Isabella y a mi bebe Dana Rafaella, a quienes siempre cuidaré y guiare para verlos crecer y ser personas capaces de valerse por sí mismas.



AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme regalado salud y permitido alcanzar mi meta, así como la fortaleza para seguir en el camino de la vida.

A mi padre y madre por todo el apoyo y confianza brindada a lo largo de mi carrera estudiantil, además de su amor incondicional y guía a lo largo de cualquier situación.

A mis hermanos por su cariño, compañía y apoyo incondicional.

A Mgst. Sonia Astudillo directora de trabajo por su guía y consejo.

A Paul Gómez por su apoyo y consejo.

A todos los familiares, amigos y compañeros que de una u otra manera me brindaron su apoyo y contribución para que esta meta sea posible.



INTRODUCCION

El suelo es esencial para el mantenimiento de la vida. Es un sistema complejo en el que ocurren numerosos procesos químicos, físicos y biológicos, y en donde viven miles de plantas y numerosas especies animales. Es un recurso de valor incalculable y un elemento esencial del medio ambiente que produce la mayor parte de los alimentos mundiales. Además, proporciona espacio habitable para los seres humanos y desempeña un papel fundamental en el buen funcionamiento de los ecosistemas, contribuyendo a la regulación del ciclo del agua y el clima, la biodiversidad, la captación de carbono y la preservación de tradiciones culturales (Benzing, A. 2001).

El suelo en su composición consta de minerales, materia orgánica, microorganismos, vegetales, aire y agua. Es una capa delgada que se ha ido formando muy lentamente con el pasar del tiempo, con la desintegración de rocas por la acción del agua, por cambios de temperatura y por la acción del viento. Los animales y las plantas que mueren dentro o en la superficie del suelo son descompuestos por microorganismos, transformándolos en materia orgánica y mezclándolos con el suelo. En el suelo se reproducen miles de formas diferentes de vida, la mayoría de estos son invisibles a nuestros ojos (FAO, 1996). Una hectárea de tierra fértil se puede encontrar gran cantidad de insectos, arañas, lombrices u otros animales diminutos. La tierra recogida en una cuchara puede contener un millón de bacterias, cientos de miles de células de levaduras y pequeños hongos (FAO, 1996).

Todas las sustancias que conforman el suelo son importantes, pero es fundamental el equilibrio entre cada constituyente. La materia orgánica y los microorganismos aportan y liberan los nutrientes y unen las partículas minerales entre sí, creando condiciones óptimas para que las plantas respiren, absorban agua, nutrientes y desarrollen sus raíces. Lombrices, bacterias y hongos también producen humus, que es una forma estable de materia orgánica. (FAO, 1996).

La materia orgánica (MO) de los suelos comprende un amplio rango de sustancias carbonadas, incluyendo: la biomasa microbiana, restos vegetales y/o animales en descomposición y mezclas amorfas coloidales de sustancias orgánicas complejas de alto peso molecular (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y huminas) (Picone, 2006). Es considerada como uno de los principales indicadores de calidad de suelo debido a su efecto benéfico sobre las propiedades físicas y el abastecimiento de nutrientes.



También ha sido documentado su efecto positivo sobre la sustentabilidad del sistema productivo en el largo plazo (Varvel et al. 1994).

Se han desarrollado una gran cantidad de técnicas analíticas que permiten cuantificar el contenido de Materia Orgánica, como el de carbono orgánico total (COT) o el carbono fácilmente oxidable (CFO). El método propuesto por Walkley & Black (W&B) es el más difundido y consiste en la oxidación húmeda de la muestra de suelo con dicromato de potasio en medio ácido. El calor desprendido, durante la incorporación del ácido sulfúrico, es el que permite la oxidación parcial del carbono. En este proceso se produce una reducción del dicromato, equivalente al contenido de carbono que es oxidado. El dicromato residual es luego titulado con sal ferrosa. Este método solo estima el CFO, por lo que se utiliza un factor de corrección de 1,72 debido a que se asume que en promedio se oxida el 58% del COT. (Eyherabide, et al., 2014).

El Sistema de Acreditación Ecuatoriano (SAE) antes conocida como Organismo de Acreditación Ecuatoriano (OAE), establece que, para que un laboratorio esté acreditado, debe validar de manera adecuada su metodología según los requerimientos de la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005, por lo que este trabajo demostró que el método usado se ajusta adecuadamente a sus requerimientos en la obtención de resultados confiables y precisos de una muestra determinada.

Por tanto, se va a necesitar instrumentos que estén debidamente calibrados, asegurar la integridad de la muestra, usar métodos confiables y la operatividad de un analista calificado, con esto se podrá verificar si el método de análisis usado es fiable y reproducible para obtener un resultado definido, así como probar la capacidad del laboratorio.



JUSTIFICACION

El Laboratorio de análisis de suelos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca se encuentra implementando métodos de análisis, por lo que es importante contar con una técnica validada sobre el análisis de materia orgánica. El Laboratorio cuenta con equipos, instrumentos y reactivos que son empleados únicamente con fines educativos. Para el laboratorio de la Facultad es importante dar servicio a la comunidad, por lo que es fundamental tener técnicas validadas para los análisis que realiza y así poder brindar resultados confiables de los métodos empleados. Contar con metodologías validadas permitirá aspirar a futuras acreditaciones sobre los ensayos y posteriormente en certificaciones.

Para llevar a cabo la validación de los métodos analíticos propuestos, es necesario tomar medidas oportunas que nos permita asegurar que es capaz de producir y reproducir efectivamente los datos en un parámetro determinado, debido a que muchas de las decisiones que se toman están basadas en la información que estos datos proporcionan (Mendez, 2016).

Los métodos que se utilizan en diferentes análisis con el pasar del tiempo sufren modificaciones, por lo que es importante para el laboratorio tenerlos normalizados y validados bajo las condiciones que el laboratorio presenta, además de cumplir con los requisitos establecidos por el SAE en la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005 para un laboratorio competente. De esta manera, el Laboratorio de Suelos de la Facultad, podrá brindar servicio a la comunidad contando con resultados fiables y validados.



OBJETIVOS

General:

Validar el método de Walkley Black para la determinación de materia orgánica en una muestra de suelo.

Específicos:

- Determinar mediante un ensayo de laboratorio el contenido de materia orgánica presente en una muestra de suelo.
- Realizar el análisis bajo condiciones de repetitividad y reproducibilidad para muestras y para el blanco.
- Realizar el análisis de ANOVA en los resultados obtenidos.
- Analizar el límite de detección y el límite de cuantificación del método.
- Comparar los resultados obtenidos vs otro laboratorio acreditado.



CAPITULO 1

1.1. El suelo:

Se entiende por suelo al material orgánico e inorgánico que en conjunto componen la corteza terrestre y sobre la cual es capaz de realizarse la mayor cantidad de los ciclos vitales. La importancia del suelo resalta con el hecho de que es sobre él donde la vida tiene lugar y debido a los diferentes procesos naturales, se puede diferenciar plantas, animales y seres humanos.

Existen muchos conceptos de suelo dependiendo del ángulo y enfoque que se le da al mismo. Sin embargo, en resumen se puede llegar al siguiente: “Suelo: Es un ente natural, tridimensional, trifásico, dinámico, sobre el cual crecen y se desarrollan la mayoría de las plantas”. Es un ente natural, pues tiene vida; tridimensional, porque se le puede ver a lo largo, ancho y profundidad; trifásico, porque en su estructura se presenta fase sólida, líquida y gaseosa; dinámico, porque en su interior se producen procesos que involucran cambios físicos y reacciones químicas continuamente. Además es el medio natural donde crecen las plantas, por tanto sirve como soporte (Sanchez, 2007).

El suelo, es esencial para la vida, igual que lo es el aire y el agua, si se utiliza de manera responsable se le puede considerar como un recurso renovable. Es un punto de enlace entre los seres bióticos y abióticos y es considerado un hábitat para el desarrollo de las plantas (Capelluto, 2015).

Debido al soporte en el planeta que constituye el suelo, es posible un adecuado manejo y uso de los recursos naturales, por lo que es necesario entender las características químicas y físicas del mismo, para propiciar la productividad y el equilibrio del medio ambiente.

1.1.1. Importancia del suelo:

El suelo es un elemento muy complejo que presenta distintas variantes debido a la región geográfica en la que se encuentre, el clima, trabajo, laboreo, alteraciones generadas por la actividad humana, etc. Se compone de una sección rocosa o inorgánica para luego estar cubierto por diversas capas de otras sustancias como arcilla, arena, humus o tierra orgánica mezclados entre sí, donde la vida es posible. Esta última capa es la que suele estar en la parte superior del suelo y donde el desarrollo de diferentes formas de vida es más probable.



El suelo constituye el fundamento más importante para la producción agropecuaria y con ello de la alimentación humana. Es muy significativo que el término de la palabra “cultura” sea la palabra latina “*colere*”, que quiere decir “trabajar la tierra” o “cuidar la tierra”. Al parecer todas las culturas agrarias tradicionales del mundo desarrollan conceptos de la “madre tierra”; un ejemplo de ello es la “*Pacha Mama*”, que según el concepto que tiene entre los indígenas, se podría traducir en sentido de tierra grande, directora y sustentadora de vida (Benzing, A. 2001).

1.1.2. Composición del suelo:

La composición volumétrica de un suelo mineral de textura franca es: 50% de materiales sólidos y 50% de espacios libres (poros). Estos últimos están ocupados por aire y agua, en una proporción dependiente del grado de humedad. En condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas, los poros están ocupados a partes iguales por aire y agua. La materia orgánica (MO) constituye el 5% del volumen de la fase sólida y está constituida por organismos (10%), raíces (10%) y humus (80%). A pesar de que la materia orgánica constituye sólo el 2-6% del peso de la fase sólida, tiene gran influencia en las propiedades del suelo: 1) propiedades físicas (formación de estructuras, retención de agua, etc.); 2) propiedades químicas (es la única fuente de N y la principal fuente de S y P); 3) propiedades biológicas (es la principal fuente de energía para los organismos del suelo responsables de la actividad bioquímica) (Brady y Weil, 2002).

La fase sólida orgánica está formada por: tejidos animales y vegetales parcialmente descompuestos, que están sujetos a una continua descomposición, y el humus, que es el producto más resistente de la descomposición de los tejidos o de los compuestos orgánicos sintetizados por los microorganismos. El humus tiene generalmente color negro o marrón oscuro, naturaleza coloidal y una capacidad de retención de agua y de nutrientes mucho mayor que los componentes sólidos inorgánicos del suelo. Su presencia en el suelo aumenta, por tanto, la actividad química, bioquímica y biológica de los mismos (Brady y Weil 2002; Wild 1988).

La cantidad de materia orgánica viva existente en los suelos (incluidas las raíces de las plantas) es suficiente para ejercer una profunda influencia en los cambios físicos y químicos que tienen lugar en el suelo.

Virtualmente, todas las reacciones naturales que ocurren en el suelo tienen una naturaleza directa o indirectamente bioquímica. La síntesis de humus, es un proceso



exclusivamente bioquímico que resulta de la actividad de los organismos del suelo (Brady y Weil 2002; Wild 1988).

1.1.3. Propiedades del suelo:

La calidad del suelo es muy variada y responde de diferente manera dependiendo de las actividades que se hayan realizado sobre él, incluyendo sus propiedades físicas, químicas y biológicas (FAO, 2018).

Según la (FAO, 2018) podemos definir la calidad del suelo como: “la capacidad del suelo de funcionar, dentro de las fronteras del ecosistema y el uso de la tierra, manteniendo la calidad ambiental y fomentando de plantas, los animales y el ser humano”

La relación entre los materiales sólidos, líquidos y gaseosos que contiene en mezcla el suelo, determina la capacidad del crecimiento y disponibilidad de nutrientes para las plantas. La cantidad existente de estos componentes determinan una serie de propiedades físicas del suelo: textura, estructura, conductividad hidráulica, porosidad, capacidad de campo, profundidad efectiva, así también propiedades químicas: pH, capacidad de intercambio catiónico, alcalinidad, salinidad, y biológicas: ciclo del nitrógeno, ciclo del carbono.

- **Textura:** Está determinada por la proporción de partículas minerales de diverso tamaño existentes en el suelo como la arena, limo y arcilla. La textura influye en la fertilidad del suelo, aireación, retención de agua y en el contenido de materia orgánica (FAO, 2018).
- **Estructura:** Es la forma de como las partículas arena, limo y arcilla se unen para formar agregados. Es un determinante directo de la aireación, movilidad del agua, conducción térmica, crecimiento radicular y resistencia a la erosión. El agua es el componente que afecta mayormente la estructura del suelo, debido a que esta disuelve y precipita los minerales del mismo (FAO, 2018).
- **Conductividad Hidráulica:** Mide el movimiento que presenta el agua en el suelo para un gradiente determinado. El agua fluye en el suelo debido a varios tipos de fuerzas como la gravedad, ascenso capilar y osmosis (FAO, 2018).
- **Porosidad:** Es la relación entre el volumen que ocupan los poros y el volumen total, expresada en porcentaje. El espacio poroso hace referencia al volumen de suelo disponible para el agua, nutrientes o aire, es decir, el espacio que no está ocupado por sólidos. El volumen del suelo se compone por un 50%



de materiales sólidos (minerales y materia orgánica) y 50% de espacio poroso (FAO, 2018).

- **Capacidad de campo:** Es la cantidad de agua capaz de retener el suelo luego de lluvia o riego hasta ser saturado y después dejado drenar libremente por 48 horas (FAO, 2018). El agua por la fuerza de gravedad se drena hacia el subsuelo, hasta llegar a un punto (capacidad de campo) en que el drenaje es mínimo tanto que el contenido de agua en el suelo se estabiliza.
- **Profundidad útil:** es aquella donde la raíz de la planta puede penetrar fácilmente, sin mayores obstáculos de tal forma que consiga el agua y los nutrientes indispensables (Ibañez, 2007).
- **pH:** Es un indicador de la acidez o alcalinidad que presenta un suelo. El valor del pH en el suelo varía entre 3,5 (muy ácido) y 9,5 (muy alcalino). Los suelos ácidos tienden a presentar cantidades altas y tóxicas de aluminio y manganeso, mientras que los suelos alcalinos tienen un alto contenido de calcio y magnesio. Para los cultivos agrícolas el valor del pH ideal es de 6,5 ya que permite el desarrollo de la mayoría de los cultivos y la asimilación de la mayoría de los nutrientes (FAO, 2018).
- **Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC):** Es la capacidad que tiene un suelo para retener o intercambiar iones positivos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+} , K^{+} , NH_4^{+} etc.), gracias a su contenido en arcillas y materia orgánica. Estos iones pueden ser intercambiados por otros cationes o iones hidrógeno presentes en la solución del suelo y liberados por las raíces. Un suelo con bajo CIC indica baja habilidad de retener nutrientes, que es un suelo arenoso o pobre en materia orgánica. (FAO, 2018).
- **Alcalinidad y salinidad:** La salinidad del suelo se refiere a la cantidad de sales en el suelo y puede ser estimada por la medición de la conductividad eléctrica (CE) de una solución extraída del suelo. La sal es un compuesto químico formado por iones con carga negativa enlazados a iones con carga positiva. Cuando el suelo presenta acumulaciones de calcio o magnesio se produce un fenómeno de salinización, mientras que, si lo que se acumula en el suelo es el sodio se produce una alcalinización (Arvensis Agro, 2014).
- **Ciclo del Nitrógeno:** Está relacionado con la actividad de microorganismos, de lombrices, nematodos, hongos, bacterias y artrópodos que se encuentran en la estructura del suelo. Los microorganismos descomponen la materia orgánica del suelo liberando a su vez nutrientes para ser asimilados por las plantas (FAO, 2018).



Las bacterias juegan un papel muy importante para el Ciclo del Nitrógeno mediante varios procesos:

La **mineralización** se da cuando ciertas bacterias u hongos transforman el nitrógeno inorgánico proveniente de restos animales o vegetales a amoníaco y este a su vez se transforma en amonio con ayuda de descomponedores o bacterias.

La **nitrificación** consta de tres etapas, en la primera las bacterias transforman el nitrógeno de la atmósfera en amonio, por lo que puede ser asimilado por las raíces de las plantas. En la segunda el amonio es oxidado a forma nitrito (NO_2^-) y este a su vez en la tercera etapa se oxida a nitrato (NO_3^-) (FAO, 2018).

La **fijación de nitrógeno** se produce cuando bacterias de tipo *Rhizobia*, *Azobacter* y *Clostridium* captan el nitrógeno atmosférico y lo depositan en su cuerpo dejándolo disponible en el suelo cuando estos mueren (FAO, 2018).

La **Desnitrificación** se produce cuando bacterias anaeróbicas como la *Achromobacter* y *Pseudomonas* transforman los nitratos y nitritos que se encuentran en el suelo en óxido de nitrógeno o nitrógeno molecular N_2 . Cuando este proceso se produce en exceso se puede generar pérdidas totales de nitrógeno disponible en el suelo afectando su fertilidad. (FAO, 2018).

- **Ciclo del Carbono:** Es designado como el proceso más importante de la Tierra ya que recicla y reutiliza el carbono (cuarto elemento más abundante del planeta). Los flujos del carbono y sus intercambios entre las distintas reservas del mundo ocurren debido a diferentes procesos químicos, físicos, geológicos o biológicos (FAO, 2018).

La mayor parte del carbono está almacenado en la atmósfera y en los océanos en forma de CO_2 . Las plantas absorben el CO_2 para utilizarlo en el proceso de fotosíntesis. A través de este proceso, los átomos de carbono forman parte de moléculas de hidratos de carbono simples, que más tarde pueden transformarse en grasas, proteínas o hidratos de carbono más complejos (Pellini, 2014).

La mayor parte de la materia orgánica proveniente de la descomposición vegetal se acumula en la superficie del suelo o en la zona radicular siendo consumida por los microorganismos del suelo casi en su totalidad creando así una reserva de carbono con una rápida tasa de renovación (FAO, 2018).

Los subproductos del consumo microbiano son emisiones de dióxido de carbono, agua y una variedad de compuestos orgánicos llamado humus. El humus está compuesto por sustancias difíciles de degradar y por ello su descomposición es lenta. En la mayoría de los suelos, la descomposición del humus rápida y lenta lleva a un tiempo de residencia de alrededor de 20 a 30 años. (FAO, 2018).



Los átomos de carbono viajan a lo largo de las cadenas alimentarias, yendo desde las plantas por los herbívoros hasta los animales carnívoros. En los animales, la digestión descompone las moléculas, y el carbono puede ser eliminado en forma de CO_2 como subproducto de la respiración o combustión de alimentos o junto con sus desechos, al cabo de pocas horas (Pellini, 2014).

1.2. Materia Orgánica:

La materia orgánica del suelo es el producto de la descomposición química de residuos orgánicos animales y vegetales así como de microorganismos que están en diferentes etapas de descomposición, y se acumulan en la superficie o en el perfil del suelo. Además, incluye una fracción viva, que participa en la descomposición y transformación de los residuos orgánicos (Martinez, 2008).

En sentido amplio puede definirse a la Materia Orgánica del suelo (MO) como una larga serie de compuestos carbonados en diferentes estados de degradación y síntesis, provenientes de restos vegetales y animales y de la propia biota que en ella se desarrolla. En su concepción más restringida se asocia al término “humus”, donde los componentes originales ya no pueden ser identificados debido a que han sufrido una especial transformación “in situ”, fuertemente condicionada por la matriz del suelo. (Carreira, 2011).

La materia orgánica viva comprende las raíces, macro organismos y los microorganismos. La materia orgánica muerta es clasificada en: a) fracción liviana, compuesta por residuos en descomposición con un tamaño mayor a $250\ \mu\text{m}$ y con una densidad menor a $1,6 - 2,0\ \text{g/cm}^3$, y b) una fracción pesada producto de agregados órgano-minerales con densidades mayores. De esta forma, la materia orgánica de los suelos es muy heterogénea y su permanencia en el suelo es muy variable, ya que presenta tiempos de reciclaje que van desde horas hasta siglos (Zagal, et al., 2002).

La cantidad de materia orgánica del suelo depende de la vegetación, el clima, la textura del suelo, el drenaje del mismo y de su laboreo. Los suelos minerales con mayor contenido de materia orgánica son normalmente los suelos de praderas vírgenes. Los suelos de bosques y aquellos de climas cálidos tienen una menor cantidad de materia orgánica (Jaramillo, 2002).

Se acepta que hay una relación general directa entre el contenido de materia orgánica del suelo y la altitud: a mayor altitud mayor contenido de materia orgánica. Este comportamiento está relacionado con el hecho de que al aumentar la altitud se reduce



la temperatura, lo que ocasiona una disminución de descomposición de aquella, produciéndose su acumulación (Jaramillo, 2002).

El porcentaje más alto de materia orgánica, excluyendo las turbas, se presenta en suelos de hierba, pajonales en climas húmedos mientras que los porcentajes más bajos se encuentran en climas cálidos con escasez de lluvias. La variación en el contenido de materia orgánica en el suelo es también muy considerable, apreciándose una disminución de esta desde la superficie hacia la profundidad.

1.2.1. Importancia de la Materia Orgánica en el Suelo:

El desarrollo de los cultivos se sustenta en la capacidad que tiene el suelo de proporcionarle las cantidades necesarias de nutrientes para su correcto desarrollo. La disponibilidad de dichos nutrientes depende de varios factores, siendo el contenido y calidad de la materia orgánica presente uno de los más determinantes (Jackson, 1958).

La materia orgánica desempeña muchas funciones importantes en los suelos, puesto que se origina de los residuos vegetales; contiene la mayoría de los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas; influye en la estructura de los suelos; los organismos presentes en el suelo dependen de ella para su alimentación y contribuyen al mismo tiempo proporcionando una condición física deseable al mezclar; crear túneles en su hábitat y participar en la mineralización (Vulca et al., 2006).

La materia orgánica del suelo es importante porque actúa como almacén de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo, azufre, boro, zinc, etc. Incrementa la capacidad de intercambio iónico. Provee energía para actividad de microorganismos que contribuyen a la mineralización. Incrementa la capacidad de retención de agua. Estabiliza la estructura del suelo y hasta la mejora. Reduce los efectos de compactación. Amortigua el suelo contra cambios rápidos en acidez, alcalinidad y salinidad (Monic, 2013).

1.2.2. Efecto de la Materia Orgánica sobre las propiedades físicas del suelo:

Mejora la estructura del suelo, principalmente a través de la formación de agregados estables. Contribuye a reducir las pérdidas de suelo por erosión gracias a su capacidad de cohesionar las arcillas (Jaramillo, 2001). Aumenta la porosidad del suelo, mejorando su aireación, penetración y retención de agua (Jackson, 1958).



Disminuye la densidad aparente del suelo, por tener menor densidad que la fracción mineral, por ende, contribuye al aumento de la conductividad hidráulica del suelo como consecuencia de los espacios vacíos que se forman en la interface entre las partículas orgánicas y minerales (Rosell, 1999).

1.2.3. Efecto de la Materia Orgánica sobre las propiedades químicas del suelo:

En el proceso de descomposición de la materia orgánica del suelo se liberan nutrientes a través de las reacciones de intercambio. El CO₂ liberado por los microorganismos y la producción de ciertos ácidos orgánicos aumenta la solubilidad de ciertos minerales, principalmente K, Ca y Mg (Rojas & Sierra, 2005).

Mejora la disponibilidad de nitrógeno y micronutrientes para las plantas (Carreira, 2005).

Mejora la nutrición fosfórica de las plantas ya que favorece el desarrollo de microorganismos fosfo solubilizadores que actúan sobre los fosfatos insolubles en el suelo (Rosell, 1999).

1.2.4. Efecto de la Materia Orgánica sobre las propiedades biológicas del suelo:

La materia orgánica influye sobre la producción de sustancias inhibidoras y activadoras del crecimiento, importantes para la vida microbiana del suelo, así como la participación en procesos pedogenéticos debido a sus propiedades de peptización, coagulación, formación de quelatos y otros. (Fassbender & Bornemisza, 1987).

Estimula el desarrollo y la actividad de los microorganismos del suelo ya que constituye su principal fuente de energía y nutrientes por lo que puede proporcionar actividad enzimática y por tanto facilitar la hidrólisis de moléculas de cadena larga, haciendo disponibles algunos nutrientes para las plantas. Además, juega un papel importante en la absorción de sustancias reguladoras del crecimiento y de los plaguicidas aplicados al suelo (Jackson, 1958).

Puede limitar el desarrollo de microorganismos patógenos, directamente o favoreciendo el desarrollo de antagonistas (Rosell, 1999).

1.2.5. Variabilidad del contenido de Materia Orgánica en el suelo:

Según (Hernández, 2013), el contenido de carbono orgánico del suelo depende de:

- **Clima:** La materia orgánica disminuye más rápido a más alta temperatura, de tal forma que, en los climas más calurosos, los suelos suelen tener menos materia orgánica que en los climas más fríos.
- **Textura del suelo:** En general, los suelos de textura fina tienen más materia orgánica que los de textura gruesa y retienen mejor los nutrientes y el agua, por lo que reúnen buenas condiciones para el crecimiento vegetal. Los suelos de textura gruesa se caracterizan por una mejor aireación y la presencia de oxígeno acelera la descomposición de la materia orgánica.
- **Hidrología (drenaje):** Cuanto más húmedo sea un suelo, menos oxígeno hay para los procesos de descomposición de la materia orgánica, que se acumula.
- **Manejo de las tierras (laboreo):** El laboreo aumenta el volumen de oxígeno en el suelo e incrementa la temperatura media de éste, lo que estimula la descomposición de la materia orgánica. También se produce pérdida de materia orgánica debido a la erosión, que reduce la capa superficial arable y el humus. En general, los cultivos aportan menos materia orgánica al suelo que la vegetación nativa.
- **Vegetación:** Las raíces aportan mucha materia orgánica al suelo. Las plantas de prados y pastizales tienen raíces profundas que se descomponen dentro del suelo. En los suelos forestales, en cambio, es la descomposición de las hojas la que aporta al suelo la mayor parte de la materia orgánica. Los cultivos producen más biomasa aérea que las raíces. La producción de materia orgánica en las tierras de labor depende del tipo de manejo de las tierras y, en particular, de si se retiran o dejan los rastrojos.

1.2.6. Relación Carbono - Materia Orgánica:

El carbono orgánico del suelo (COS) es el principal elemento que forma parte de la materia orgánica, por esto es común que ambos términos se confundan o se hable indistintamente de uno u otro (Martínez, 2008). Al respecto cabe señalar que los métodos analíticos determinan carbono orgánico en porcentaje, (vía húmeda o seca) y que el porcentaje de la materia orgánica se estima a partir del porcentaje de carbono orgánico multiplicándolo por factores empíricos como el de Van Benmelen 1,724 (Jackson, 1964). El uso del factor se ha generalizado considerando que la materia orgánica del suelo tiene un 58 % de carbono (Barreira, 1978). El factor de conversión del porcentaje de carbono orgánico a porcentaje de materia orgánica puede variar entre 1,9 para suelos superficiales y 2,5 para muchos subsuelos (Broadbent, 1953). Como existe una considerable variación entre diferentes suelos y horizontes en el



factor de conversión, es preferible informar el valor de COS sin transformar (Allison, 1965).

1.2.7. Métodos para determinar Materia Orgánica:

Hay al menos dos caminos posibles para evaluar el contenido de materia orgánica en un suelo. En uno se obtiene por la disminución de la masa de una muestra de suelo seco al ser calcinado, la otra vía es evaluando el contenido de C, por ser uno de los elementos mayoritarios que la conforma. Sin embargo en ambos casos, y por diversos motivos, resulta imposible arribar a un valor cierto del contenido real de la materia orgánica en el suelo (Carreira, 2011).

El método de calcinación o pérdida por ignición cuantifica directamente el contenido de materia orgánica y se basa en determinar la pérdida de peso de una muestra de suelo al someterla a elevadas temperaturas. Los métodos que calcinan a altas temperaturas sobreestiman su valor, dado que junto con la materia orgánica se pierden otros compuestos inorgánicos volátiles, como las arcillas, el agua estructural de los aluminosilicatos, el agua de cristalización de las sales (sulfatos, cloruros, etc.) o porque se produzca la descomposición de los carbonatos si estuvieran presentes (Nelson y Sommers, 1996).

El método de oxidación con peróxido de hidrógeno se recomienda para eliminar materia orgánica de muestras de suelos sometidos a análisis de textura y que presentan dificultades para dispersar debido a que tienen alto contenido de ella, también es útil si se quiere cuantificar el contenido de materia orgánica en un suelo en que el contenido de ella sea bajo (Cortiza, 2014). En éste análisis se debe tener mucha precaución al adicionar el peróxido de hidrógeno dado que la reacción puede ser violenta y causar quemaduras al operario, de igual forma puede ocasionar pérdida de material de la muestra, invalidando la determinación (Cortiza, 2014).

La determinación de la materia orgánica por vía húmeda es una aproximación, ya que se determina el contenido total de materia orgánica de manera muy aproximada a partir del contenido en carbono orgánico, multiplicándolo por un factor de conversión. Este tipo de método consiste en un óxido-reducción de la materia orgánica. El método más empleado es con un exceso de solución de dicromato de potasio en medio de ácido sulfúrico concentrado según el método de Walkley-Black. La oxidación del carbono es activada por el desprendimiento del calor que se produce al añadir el ácido sulfúrico concentrado sobre la solución de dicromato de potasio. El exceso de oxidante se determina titulando con una sal ferrosa (Sal de Mohr) que actúa como



reductor. En la reacción se considera que el dicromato reducido es equivalente al carbono orgánico existente en la muestra de suelo y el exceso de dicromato es titulado con iones Fe^{2+} obtenidos a partir de una solución estandarizada de la sal ferrosa (Eyherabide, 2014).

1.3. Fundamentos Generales del Análisis Volumétrico:

El análisis volumétrico posee una enorme ventaja con respecto al análisis gravimétrico: su rapidez. La aceleración de las determinaciones se consigue gracias a que en el análisis volumétrico, en lugar de pesar el producto de la reacción, se mide el volumen de reacción de reactivo utilizado, cuya concentración siempre se conoce exactamente. De este modo, la determinación cuantitativa de sustancias químicas se efectúa por medio de la medición precisa de los volúmenes de las soluciones que entran en reacción. (Zumbado, 2004).

El procedimiento general y esencial empleado en los métodos volumétricos de análisis se denomina “valoración”, y puede definirse como “el procedimiento operativo consistente en hacer reaccionar la sustancia que se cuantifica (analito) convenientemente disuelta en un disolvente adecuado, con una solución de concentración exactamente conocida que se adiciona desde una bureta”. A la solución de concentración exactamente conocida se le llama “patrón valorante” y a la solución del analito que se determina se le conoce como “sustancia a valorar” (Zumbado, 2004).

Según (Zumbado, 2004), la reacción entre ambas sustancias (valoración) culmina cuando se alcanza el punto estequiométrico o punto de equivalencia, es decir cuando la cantidad de sustancias del equivalente del analito ha reaccionado completamente con una idéntica cantidad de sustancia del equivalente del patrón valorante adicionado.

O sea, la valoración se detiene cuando:

$$n_{\text{Analito}} = n_{\text{Patrón Valorante}} \quad \text{ec. 1}$$

Y de esta expresión se deriva la Ley de Richter o Ley fundamental de la volumetría.

$$[V * c]_{\text{Solución del Analito}} = [V * c]_{\text{Patrón Valorante}} \quad \text{ec. 2}$$

Conocido el volumen exacto de la solución del analito tomado para el análisis y el volumen consumido del patrón valorante de concentración exactamente conocida, puede entonces calcularse fácilmente la concentración de la solución del analito.



$$c_{\text{Analito}} = \frac{[V * c]_{\text{Patrón Valorante}}}{V_{\text{Solución del Analito}}} \quad \text{ec. 3}$$

Donde:

$n(x/z^*) = \text{moles de soluto}$

$c(x/z^*) = \text{concentración (mol/L)}$

$V = \text{Volumen (L)}$

La detección del punto final de la valoración se realiza con ayuda de los indicadores, los cuales son sustancias que producen un cambio físico visible (variación de color, aparición de un precipitado, etc.) en la solución que se valora, indicando al analista que debe detener la adición de la solución patrón valorante dando por terminada la valoración.

Obviamente el cambio físico producido por los indicadores debe tener lugar en las cercanías del punto de equivalencia de la reacción con vista a no afectar la exactitud y precisión del análisis (Zumbado, 2004).

Se debe advertir que no siempre es posible realizar valoraciones con el empleo de indicadores, aun cuando a nivel teórico se conozca que el cambio físico ocurre muy cerca del punto de equivalencia. Tales son los casos de valoraciones de soluciones intensamente coloreadas o turbias, puesto que la observación del cambio de coloración se hace difícil, y a veces imposible de percibir. En estos casos se debe recurrir a métodos instrumentales de valoración en los cuales el punto final se determina con la ayuda de instrumentos que proporcionaran una señal analítica del punto de equivalencia. (Zumbado, 2004).

1.3.1. Características de una Reacción Volumétrica:

Según (Zumbado, 2004) las reacciones que se emplean en una valoración volumétrica deben cumplir las siguientes condiciones:

- **Ser cuantitativa.** El analito que se determina debe reaccionar cuantitativamente con la solución patrón valorante, es decir la reacción tiene que ser completa, lo que se traduce en una constante de equilibrio suficientemente elevada que garantice el desplazamiento de la reacción hacia la formación de los productos.
- **Ser rápida.** La reacción debe ocurrir a una velocidad suficientemente elevada que permita que la cantidad adicionada del patrón valorante reaccione inmediatamente con el analito presente en la solución a valorar. De lo contrario se



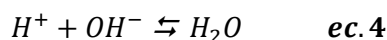
acumulará una cierta cantidad de patrón valorante sin reaccionar lo que conduce a una sobrevaloración.

- **Ser estequiométrica.** Es indispensable que la solución patrón del reactivo que se agrega se consuma exclusivamente en la reacción con la sustancia que determina. En otras palabras, durante la valoración no deben producirse reacciones secundarias que afectan la estequiometría de la reacción entre el analito y el patrón valorante e imposibilite el cálculo preciso de los resultados del análisis.
- **Detectar fácilmente el punto de Equivalencia.** Es imprescindible para la aplicación de los métodos volumétricos de análisis, la existencia de un procedimiento, método adecuado para detectar el punto final de la valoración, mediante un cambio físico visible que tenga lugar lo más cercanamente posible al punto de equivalencia.

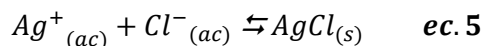
1.3.2. Clasificación de los Métodos Volumétricos de Análisis:

Los métodos de análisis volumétrico se pueden clasificar en función del tipo de reacción química que tiene lugar entre el patrón valorante y el analito que se cuantifica. Entonces, los métodos volumétricos se clasifican en 4 grupos de reacciones (Zumbado, 2004).

- 1.3.2.1. **Volumetría de Neutralización:** Conocida también como volumetría ácido-base, comprende las determinaciones basadas en reacciones entre ácidos y bases, las cuales responden a la siguiente ecuación química general:



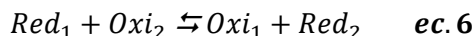
- 1.3.2.2. **Volumetría de Precipitación:** La volumetría de precipitación se basa en reacciones donde ocurre la formación de un precipitado escasamente soluble. Los métodos más usados son los argentométricos que emplean una solución de nitrato de plata como patrón valorante.



- 1.3.2.3. **Volumetría de Oxidación-Reducción:** La volumetría de oxidación-reducción se basa en reacciones donde ocurre una transferencia de electrones de una sustancia a otra. La oxidación de una especie va siempre acompañada de la reducción de la otra, de ahí que estos



procesos ocurran simultáneamente. La ecuación general puede ser representada de la siguiente forma:



1.3.2.4. **Volumetría de Formación de Complejos:** Conocida también como complejometría, se fundamenta en reacciones que dan lugar a la formación de un complejo estable (compuesto de coordinación) entre un átomo central (generalmente un metal) y una sustancia que posee pares de electrones no compartidos denominada ligando. La reacción general puede escribirse:



Donde M es el metal, D es el ligando y MD es el complejo formado.

1.4. Validación de Métodos Analíticos:

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados entregados por dicho método son confiables (Duffau & Rojas, 2010). Cuando se realiza la validación de un método, lo que se busca es poder determinar con fundamento estadístico que el método es adecuado para los fines previstos (Duffau & Rojas, 2010).

En este sentido, es importante que para el proceso de validación se asigne a un responsable de realizar dicha tarea. De manera que, la validación se efectúe en forma metódica, ordenada, trazable y confiable (Duffau & Rojas, 2010).

En la práctica, que un método analítico sea adecuado para un determinado propósito se determina mediante estudios de validación, y éstos proporcionan información sobre el procedimiento completo y sobre la influencia de factores individuales, de tal forma que pueden ser aplicados además a la estimación de la incertidumbre asociada con los resultados de los métodos en uso. (Crubellati, 2009)

En general, según (Duffau & Rojas, 2010), se establece que el laboratorio debe validar:

- Métodos no normalizados: Corresponden a métodos desarrollados por el laboratorio o métodos nuevos (ejemplo: publicado en revista científica), o bien, a métodos que tradicionalmente se han utilizado en el laboratorio pero que no están normalizados.
- Método normalizado con una modificación significativa.

Según la ISO 17025:2005, la validación es la confirmación a través del examen y el aporte de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto, el rango y la exactitud de los valores que se pueden obtener empleando métodos validados (por ejemplo la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, cuantificación, linealidad, intervalo de confianza, etc.), tal como fueron determinados para el uso previsto, deben ser pertinentes a las necesidades de los clientes.

1.5. Características de Desempeño de un Método Analítico:

Para el cálculo de todos estos parámetros se utiliza ecuaciones de estadística para un conjunto de datos tales como media aritmética, desviación estándar y desviación estándar relativa.

1.5.1. Media: En términos matemáticos, es igual a la suma de todos los valores dividida entre el número total de sumandos (Miller, 2010).

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{ec. 8}$$

1.5.2. Desviación Estándar: Para una serie de mediciones del mesurando x_i la magnitud s caracteriza la dispersión de los resultados y se expresa según la ecuación (Miller, 2010).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \text{ec. 9}$$

1.5.3. Desviación Estándar Relativa: La desviación estándar relativa, es una estimación de la desviación estándar de una muestra de resultados divididos por la media de esa muestra (Miller, 2010).

$$RSD = CV = \frac{s}{\bar{x}} \quad \text{ec. 10}$$

Frecuentemente se le conoce como coeficiente de variación (CV). Habitualmente es expresada como un porcentaje según (Miller, 2010).

$$\%CV = 100 * \frac{s}{\bar{x}} \quad \text{ec. 11}$$

1.5.4. Error Absoluto:

Es el valor de la diferencia entre el promedio de lo observado o medido (\bar{x}) y el valor verdadero de una magnitud (μ). Tiene las mismas dimensiones que la magnitud

medida y es conveniente expresarlo con las mismas unidades de ésta a través de la siguiente ecuación (Castañeda, 1996):

$$\varepsilon = |\bar{x} - \mu| \quad \text{ec. 12}$$

Exactitud o sesgo (ε), también se puede expresar en forma de error relativo (ε_r). Es el cociente entre el error absoluto y el valor verdadero de la magnitud, éste se calcula utilizando la siguiente ecuación (Castañeda, 1996):

$$\varepsilon_r = \frac{\varepsilon}{\mu} \quad \text{ec. 13}$$

1.5.5. Error Relativo Porcentual:

El error relativo porcentual ($\%\varepsilon_r$), es un índice del inverso de la exactitud de un análisis, siendo la incertidumbre relativa multiplicada por 100. En la práctica, el valor accesible es la media aritmética de una serie de medidas. Se puede expresar el porcentaje de error de la siguiente manera (Castañeda, 1996):

$$\%\varepsilon_r = \frac{\varepsilon}{\mu} * 100 \quad o \quad \%\varepsilon_r = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\mu} * 100 \quad \text{ec. 14}$$

1.5.6. Exactitud:

Es la concordancia existente entre un resultado proveniente de una medición y un valor de referencia aceptado (Eurachem, 1998).

La validación busca cuantificar la exactitud de los resultados teniendo en cuenta tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios que puedan afectarlos. La exactitud tiene en cuenta dos componentes: veracidad y precisión (Crubellati, 2009).

1.5.7. Veracidad:

Es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado (Eurolab, 2016).

1.5.8. Precisión:

Medida de cuán cerca o dispersos están los resultados unos de otros, y se expresa normalmente como la desviación estándar o desviación estándar relativa, ya que se acepta la varianza como el mejor indicador de la dispersión: a menor varianza, mayor precisión. Las medidas más comunes de la precisión son repetibilidad y reproducibilidad (Crubellati, 2009).



1.5.9. Repetibilidad:

Condición según la cual los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre la misma muestra, dentro del mismo laboratorio, por el mismo analista, usando los mismos equipos y dentro de intervalos de tiempo cortos. (Eurolab, 2016).

1.5.10. Reproducibilidad:

Condición según la cual los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos. (Eurolab, 2016).

1.5.11. Límite de Detección:

Según la AOAC (Asociación Oficial de Químicos Agrícolas), el límite de detección es el menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable.

El límite de detección, expresado como la concentración c_L , o la cantidad q_L , se deriva de la medida más pequeña x_L , que puede detectarse con certeza razonable por un procedimiento analítico dado. El valor de x_L es dado por la ecuación:

$$x_L = x_{bl} + k s_{bl} \quad \text{ec. 15}$$

Donde x_{bl} es la media de las mediciones del blanco y s_{bl} la desviación estándar de las mediciones del blanco y k es un valor elegido de acuerdo al nivel de confianza deseado (Eurachem, 1998).

1.5.12. Límite de Cuantificación:

Según NATA TECH, es la menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión y exactitud aceptables bajo condiciones establecidas de la prueba.

Los límites de cuantificación son características de desempeño que marcan la habilidad de un proceso de medición química para cuantificar adecuadamente un analito.

La habilidad para cuantificar se expresa generalmente en términos de la señal o valor (verdadero) del analito que producirá estimaciones con una desviación estándar relativa (RSD) especificada, comúnmente del 10%.

Así:

$$L_Q = K_Q \sigma_Q \quad \text{ec. 16}$$



Donde: L_Q es el Límite de cuantificación, σ_Q es la desviación estándar en ese punto, y k_Q es el multiplicador cuyo recíproco es igual a la RSD seleccionada y cuantificada. El valor por omisión de k_Q propuesto por La IUPAC es de 10 (Eurolab, 2016).



CAPITULO 2

2.1. Etapas preliminares para la realización del método:

Para la validación del método de Walkley Black se realizó la identificación de los requisitos expuestos en la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005.

Según la Norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005 en el inciso 5,1 (anexo 4) los requisitos técnicos que se mencionan para determinar la exactitud y la confiabilidad de los ensayos realizados por un laboratorio incluyen elementos provenientes de:

Los factores humanos: se debe asegurar la competencia del personal que realiza tareas específicas, éste debe estar calificado sobre la base de una educación, formación y experiencia apropiadas, así como de habilidades demostradas, según sea requerido.

Las instalaciones y las condiciones ambientales: las instalaciones del laboratorio para realizar los ensayos deben estar incluidas pero no limitadas a las fuentes de energía, la iluminación y las condiciones ambientales, que deben facilitar la ejecución correcta de los ensayos.

Los métodos de ensayo y de calibración: el laboratorio debe aplicar métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos dentro del alcance.

Validación de los métodos: la validación es la confirmación a través del examen y el aporte de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto el rango y la exactitud de los valores que se pueden obtener empleando métodos validados (por ejemplo la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, cuantificación, linealidad, intervalo de confianza, etc.), tal como fueron determinados para el uso previsto, deben ser pertinentes a las necesidades de los clientes.

Equipos: el laboratorio debe estar provisto con todos los equipos para la medición requeridos para la ejecución correcta de los ensayos.

La trazabilidad de las mediciones: calibración de equipos (balanzas, buretas digitales, etc.), patrones o materiales de referencia.

El muestreo: procedimiento definido por el cual se toma una parte de una sustancia, material o producto para proveer una muestra representativa del total para el ensayo.



El manejo de los objetos a ensayar: el laboratorio debe tener procedimientos para el transporte, recepción, manejo, protección, almacenamiento, conservación o la disposición final de los objetos a ensayar.

Aseguramiento de la calidad de resultados: el laboratorio debe tener procedimientos de control de la calidad para controlar la validez de los ensayos ejecutados, los datos resultantes deben ser registrados en forma tal que se puedan detectar las tendencias y cuando sea factible se deben aplicar técnicas estadísticas para la revisión de los resultados.

Informe de resultados: los resultados de cada ensayo o serie de ensayos efectuados por el laboratorio, deben ser informados con exactitud y de forma clara y objetiva, de acuerdo con las instrucciones específicas de los métodos de ensayo o de calibración.

2.2. Elección del Método

El método de Walkley Black para análisis de materia orgánica en un suelo, es el método más difundido y usado en los laboratorios debido a su simplicidad y rapidez. Esto se debe a que en el procedimiento del análisis no intervienen equipos complejos o reactivos costosos. Además puede adaptarse para la manipulación de gran número de muestras (Eyherabide, 2014). Se utiliza material de vidrio común de laboratorio y el tiempo de determinación es corto, de 1 a 4 h, en comparación con el método gravimétrico de calcinación que varía de 2 a 24 h y la cantidad de muestras analizadas estaría condicionado por el tamaño de la mufla.

Con respecto al método de Dumas en el que se emplea un analizador elemental orgánico (Eyherabide, 2014), el laboratorio de suelos no dispone de este equipo siendo un limitante al momento de utilizar esta metodología. Por lo tanto, el método electo para la validación del análisis de materia orgánica, es el método de Walkley Black, ya que el laboratorio de suelos dispone de todos los materiales, equipos y reactivos que este método requiere.

2.3. Descripción del Método:

El método analítico planteado para la validación, es el método de Walkley y Black, es el mismo método adoptado por el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad de Cuenca.

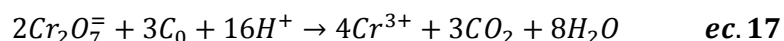
El método consiste en la oxidación incompleta del carbono orgánico dado por la reacción de una cantidad conocida de Dicromato de Potasio que actúa como oxidante en medio de un exceso de Ácido Sulfúrico concentrado. El resultado de la mezcla



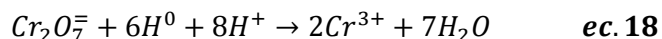
sulfo-crómica proporciona una temperatura suficiente para alcanzar la oxidación del carbono orgánico presente en la muestra de suelo (Carreira, 2011). El exceso de dicromato es luego valorado con una solución de Sulfato Ferroso Amónico Hexahidratado (García, 2003). En la reacción se considera que el dicromato reducido es equivalente al carbono orgánico existente en la muestra. Para expresar el resultado en porcentaje de materia orgánica se debe multiplicar el resultado obtenido por un factor de corrección debido a la combustión incompleta del Carbono (Eyherabide, 2014)

2.3.1. Reacciones Involucradas:

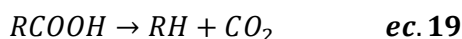
(Carreira, 2011) indica en su estudio que, a pesar de que experimentalmente existe una relación proporcional entre la cantidad de CO_2 desprendido en la oxidación por vía húmeda y la cantidad de ácido crómico reducido, las reacciones involucradas no están bien establecidas. Normalmente la representación de la oxidación del carbono mediante una ecuación redox considera al C de la materia orgánica en un estado de oxidación inicial igual a “cero”.



También el H constitutivo de la MO puede reaccionar aumentando el consumo de dicromato. Sin embargo este consumo disminuye notablemente en las cadenas alifáticas de alto PM y en los compuestos cíclicos.



Por otra parte ocurre una reacción de descomposición de los radicales oxigenados con desprendimiento de anhídrido carbónico, que se suma al generado en la oxidación del CO.



Se sugiere una compensación de los efectos del H y O orgánicos, por lo que se asume que, cada átomo de carbono es oxidado desde un estado de oxidación 0 a un nivel +4, reflejando de esta manera todo el intercambio de electrones en la reacción. Por lo tanto, y a los fines prácticos, el equivalente redox del C puede considerarse igual a 3 (Peso Atómico del Carbono / 4).

2.3.2. Potencial Redox:

El potencial redox del sistema está fuertemente asociado a la concentración de H_2SO_4 y a la temperatura de reacción. Sin embargo el nivel de oxidación dependerá no sólo de la temperatura máxima alcanzada, sino también de la persistencia del calor

generado. En la tasa de pérdida de calor juega un papel fundamental la arquitectura del recipiente de reacción, debido a la superficie expuesta para el intercambio de calor, asociada a las características del medio aislante que lo envuelve, el cual se define básicamente por su coeficiente de conductividad térmica. La concentración de dicromato 1N asegura una intensidad oxidativa constante, siempre y cuando la muestra no consuma más del 80% del dicromato añadido (Carreira, 2011).

2.3.3. Interferencias Químicas

Este tipo de método está sujeto a interferencias provocadas por algunos constituyentes del suelo siempre y cuando se encuentren en cantidades elevadas. La presencia significativa de iones cloruros o iones ferrosos sobreestimarían el carbono orgánico mientras que los nitratos provocarían el efecto inverso dando valores bajos de carbono orgánico (Carreira, 2011).

La interferencia del cloruro es significativa sólo en suelos salinos, dado que consume dicromato con una relación estequiométrica de 4:1 (Cl:C). Esta puede corregirse mediante un lavado del suelo previo al análisis o incorporando Ag_2SO_4 en el ácido sulfúrico en una concentración cercana al 1% para provocar la precipitación del Cl como AgCl (Carreira, 2011).

En cuanto al nitrato la interferencia es significativa sólo con concentraciones que exceden el 5 % del contenido de carbono. Y con respecto al ion ferroso, éste puede eliminarse fácilmente con el secado del suelo al aire (Carreira, 2011)

2.4. Toma de Muestra:

El muestreo se realizó en una parcela de la Granja Municipal en San Antonio, que se encuentra en la provincia del Azuay, cantón Gualaceo Km 6 vía a San Juan.



Fig 1. Granja Municipal Integral San Antonio.

El muestreo se realizó según el procedimiento descrito en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 inciso 6, donde indica acerca de la evaluación de la conformidad para muestreo de suelos.

La parcela objeto de estudio no contenía cultivo alguno y según información proporcionada por el Ingeniero Agrónomo a cargo del lugar, el último cultivo realizado fue de alfalfa hace más de un año.

El área de la parcela es de 2387,13 m² y para la realización del muestreo fue dividida en 20 puntos escogidos al azar en forma de zigzag, de manera que cubrió la totalidad del área de la parcela y nos brindó una muestra representativa de las condiciones que presentaba el terreno.

En cada punto elegido, se eliminó la cobertura vegetal, se limpió la superficie del suelo descartando piedras, hojas o restos de césped.

Con una pala se realizó un corte en forma de “V” (Fig. 2), hasta unos 20 cm de profundidad y 5cm de espesor, se recogió la parte central en la pala descartando los bordes mediante un corte con cuchillo. Se colocó en un balde o bolsa grande.

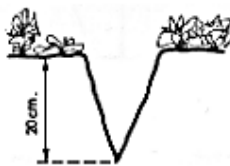


Fig. 2. Corte con pala en V

Se juntó el material de las submuestras, desmenuzando los terrones y eliminando raicillas hasta un tamaño pequeño sobre una tina o plástico limpio y se mezcló tirando de las esquinas opuestas, alternando las diagonales hasta obtener una muestra homogénea.

Se procedió a realizar un cuarteo después del mezclado de las muestras, para esto se formó una torta circular la que se dividió en cuatro partes iguales, de las cuales se descartó dos cuartos opuestos y con los dos restantes se repitió el proceso de mezclado indicado. Se repitió el proceso tantas veces como fue necesario hasta que se obtuvo una muestra final con un peso de 1kg.

Para el estudio de este suelo se extrajeron 20 muestras de manera aleatoria en forma de zigzag con una profundidad aproximada de 20 cm cada una. Las muestras fueron recolectadas en un envase limpio para su posterior homogenización y etiquetado. La muestra fue almacenada en una funda plástica ziploc con capacidad de 1kg.



2.5. Secado y Tamizado:

Se realizó según el procedimiento descrito en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 inciso 7, Evaluación de la conformidad en los análisis de suelos.

Durante el traslado es necesario evitar el efecto de factores exteriores así como de contaminantes por lo que no se recomienda el uso de materiales que puedan oxidarse o de cintas adhesivas.

El secado se realizó con el propósito de facilitar el manejo de la muestra, mejorar la homogenización y disminuir en lo posible los cambios químicos indeseables.

El secado se realizó al ambiente extendiendo la muestra sobre una superficie que no contamine (papel periódico) formando una capa inferior a 2,5 cm.

Para tamizar se retiró las piedras, raicillas y material orgánico visible. La muestra seca se pasó por un tamiz ASTM N° 40 (abertura 0,425 mm) y recolectada nuevamente en una funda plástica ziploc limpia y seca, se etiquetó la muestra quedando así lista para su posterior uso en el análisis.

2.6. Reactivos, Materiales y Equipos:

REACTIVOS
Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$)
Ácido Sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
Ácido Fosfórico (H_3PO_4)
Sulfato Ferroso Amónico ($Fe (NH_4)_2 (SO_4)_2 \cdot 6H_2O$)
Sulfato de Plata (Ag_2SO_4)
Fluoruro de Sodio (NaF)
Di fenilamina ($C_6H_5)_2HN$
MATERIALES
Balones de Aforo 1000 ml
Vasos de Precipitación 250 y 500 ml
Varilla de Vidrio
Piseta Plástica
Botellas ámbar de vidrio 1000 ml
Tamices ASTM N° 4, 8, 12, 20, 40
Erlenmeyer de 250 ml
Pipetas de 5 y 10ml
Bureta
Probeta de Vidrio 50 ml
Gotero
Soporte Universal

Tabla I: Reactivos, Materiales y Equipos. Fuente: Elaboración Propia



EQUIPOS

Balanza Analítica
Agitador Magnético
Cronómetro Digital
Campana Extractora de Gases

Continuación Tabla I: Reactivos, Materiales y Equipos.

2.7. Preparación de Reactivos:

Los reactivos utilizados deben ser de grado analítico y el agua usada debe ser destilada y desionizada (NTC 5403).

Solución 1 N de Dicromato de Potasio: Disolver en agua destilada 49,04 g de $K_2Cr_2O_7$ y aforar en un matraz volumétrico a 1000 ml.

Ácido Sulfúrico concentrado (H_2SO_4) con una densidad de 1,84 g/ml. Adicionar 2.5 g de sulfato de plata por cada 100 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Ácido fosfórico (H_3PO_4) del 85%.

Solución 0,5 N de Sulfato Ferroso Amónico: 196,1 g de $Fe (NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ se disuelve en 800 ml de agua y 20 ml de H_2SO_4 concentrado, aforar a 1000 ml.

Indicador Difenilamina: Disolver 0,5 g de $(C_6H_5)_2HN$ en 20 ml de agua y añadir 100 ml de H_2SO_4 concentrado.

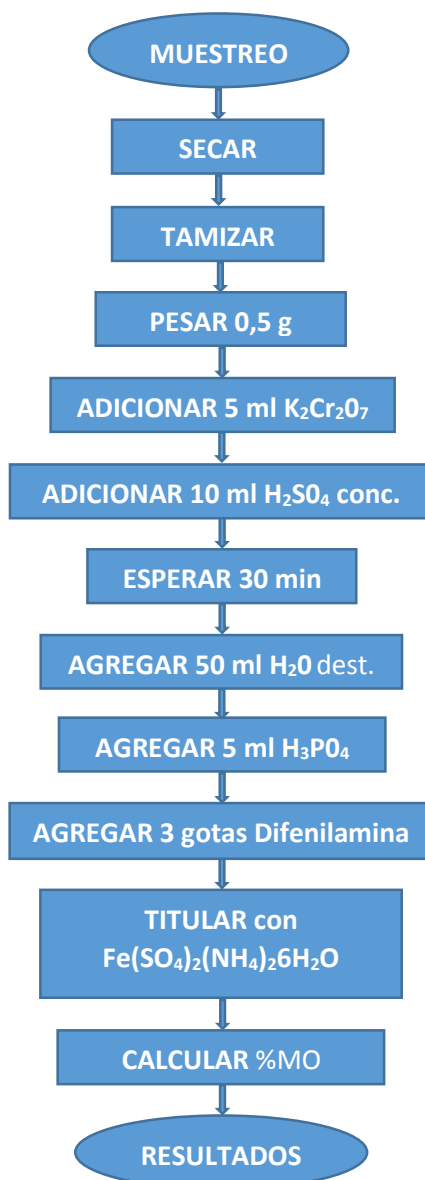
2.8. Procedimiento:

Para la determinación de materia orgánica por el método de Walkley Black se sigue el siguiente procedimiento descrito en la Norma Técnica Colombiana NTC 5403:

1. Pesar 0,100 a 1,000 g de muestra seca al aire y tamizada por malla de abertura 0,5 mm en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Dependiendo del color del suelo, mientras más oscuro sea, se pesa menor cantidad y viceversa.
2. Con la ayuda de una pipeta y dentro de una campana extractora, adicionar 5 ml de la solución de dicromato de potasio 1N.
3. Adicionar lentamente con una pipeta volumétrica 10 ml de ácido sulfúrico concentrado girando el matraz con cuidado de manera que la mezcla quede en contacto con todo el suelo y evitando que se adhiera a las paredes.
4. Dejar reposar la mezcla por 30 minutos sobre una lámina de asbesto o madera evitando superficies de acero, cerámica o metal.
5. Añadir 50 ml de agua destilada y desionizada.

6. Añadir 5 ml de ácido fosfórico al 85%, 1 ml de NaF al 2,5% en peso y 3 gotas de indicador Difenilamina.
7. Se realiza la titulación gota a gota desde una bureta con la solución de Sulfato Ferroso Amónico 0,5 N agitando constantemente. Para obtener una mejor homogenización se utiliza un agitador magnético.
8. Al inicio de la valoración se tiene una mezcla de color pardo oscuro que variará por distintas tonalidades de azul durante la valoración hasta el punto final cambiando a color verde esmeralda.
9. Anotar el volumen de sulfato ferroso amónico utilizado en la valoración y proceder a realizar los cálculos.
10. Se debe realizar un blanco siguiendo el proceso antes descrito pero sin muestra.

2.9. Flujograma del procedimiento del método de Walkley Black:



2.10. Objetivos para Validación del Método:

Para establecer los objetivos en la presente investigación se propuso los siguientes parámetros y criterios de aceptación para métodos volumétricos (Tabla II). Los valores tomados están basados en el estudio realizado por (Ramos, 2015), así como en la publicación realizada por (Ariolla, 2012) y en la guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (Eurolab, 2016).

En cuanto a los límites de detección y cuantificación no indican un valor máximo o mínimo de aceptación, sino que, se establece de acuerdo a un valor máximo aceptable para el parámetro escogido, según el tipo de análisis y su propósito específico, para el límite de cuantificación se espera una variabilidad mayor, que para el caso de la repetibilidad (Matallana, 2015).

Parámetro	Objetivo para Validación	Fuente
Límite de detección	0.5 %	Matallana, 2015
Límite de cuantificación	1,0 %	Matallana, 2015
Exactitud (% recuperación)	85 - 105%	Ariolla L., 2012
Error Relativo Porcentual	≤ 26%	Alemán I., 2016
Repetibilidad	%CV ≤ 10%	Ramos C., 2015
Reproducibilidad	%CV ≤ 10%	Ramos C., 2015

Tabla II. Objetivos para validación del método. Fuente: Elaboración Propia.

2.11. Determinaciones:

Los resultados del volumen (ml) del sulfato ferroso amónico (Sal de Mohr) utilizados en la titulación se presentan en la Tabla III.

Volumen (ml)						
Sulfato Ferroso Amónico Hexahidratado						
DIA	1	2	3	4	5	BLANCO
Blanco	10.10	10.10	10.10	10.10	10.10	10.15
s1	7.70	7.75	7.75	7.85	7.85	10.15
s2	7.75	7.80	7.75	7.80	7.70	10.30
s3	7.80	7.75	7.80	7.75	7.80	10.15
s4	7.75	7.75	7.85	7.80	7.75	10.15
s5	7.80	7.70	7.80	7.85	7.75	10.15
s6	7.80	7.75	7.75	7.80	7.75	10.20
s7	7.75	7.65	7.75	7.75	7.65	10.15
s8	7.70	7.70	7.80	7.70	7.80	10.10
s9	7.80	7.80	7.75	7.80	7.70	10.10
s10	7.75	7.85	7.80	7.80	7.90	10.15

Tabla III. Volumen gastado (ml) de Sulfato Ferroso Amónico. Fuente: Elaboración Propia.

Se realizó 10 ensayos diarios en la misma muestra, dentro del mismo laboratorio, por el mismo analista, utilizando las mismas soluciones y siguiendo el procedimiento tanto de preparación de reactivos como del análisis de la muestra antes descrito para así obtener el volumen de sulfato ferroso amónico (Sal de Mohr) utilizados en mililitros por la muestra y por el blanco. Una vez obtenido este volumen se procede a calcular el porcentaje de materia orgánica contenida en la muestra de suelo. Este proceso se realizó por 5 días distintos, obteniendo un resultado de 50 análisis diferentes que nos permiten calcular repetibilidad y reproducibilidad respectivamente.

En la Tabla IV se expresan los resultados obtenidos del porcentaje de materia orgánica, estos datos se utilizaron para realizar los cálculos de los parámetros de control planteados para la validación, como exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad.

% Materia Orgánica Contenida en el Suelo						
DIA	1	2	3	4	5	BLANCO
s1	1.596	1.563	1.562	1.497	1.496	0.00
s2	1.563	1.529	1.563	1.529	1.596	0.00
s3	1.530	1.563	1.529	1.563	1.529	-0.05
s4	1.563	1.562	1.496	1.529	1.563	0.00
s5	1.529	1.596	1.529	1.496	1.563	0.00
s6	1.529	1.562	1.562	1.529	1.563	-0.02
s7	1.562	1.629	1.563	1.563	1.629	0.00
s8	1.596	1.596	1.528	1.596	1.529	0.02
s9	1.530	1.529	1.563	1.529	1.596	0.02
s10	1.563	1.496	1.529	1.530	1.463	0.00

Tabla IV. Contenido en porcentaje de Materia Organica. Fuente: elaboración propia.

El cálculo del porcentaje de materia orgánica en la muestra de suelo se realizó según la ecuación tomada de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000.

$$\%MO = \%CO * 1.724 \quad \text{ec. 20}$$

$$\%CO = \frac{(B - M) * N * 0.39}{P} \quad \text{ec. 21}$$

Donde:

B = Volumen de sulfato ferroso amónico gastado en la valoración del blanco.

M = Volumen de sulfato ferroso amónico gastado en la valoración de la Muestra.

N = Normalidad del sulfato ferroso. Valorar la solución por separado al momento de analizar la muestra. ($N = ml \text{ de } K_2Cr_2O_7 \text{ usados} / B$)



$$0.39 = \text{resulta de multiplicar } \frac{12}{4000} * \frac{1}{0.77} * 100$$

Donde $\frac{12}{4000}$ es el mili equivalente del carbono, $\frac{1}{0.77}$ es un factor de corrección ya que se supone que el método oxida solo el 77% de Carbono y se multiplica por 100 para llevar el resultado a porcentaje. En la mayoría de los laboratorios se sigue usando el factor de Van Benmelen de 1.724 para estimar la materia orgánica a partir del Carbono orgánico, el cual resulta de la suposición de que la Materia Orgánica contiene un 58% de Carbono.

2.11.1. Cálculo de la Exactitud:

En la Tabla V se presenta el valor verdadero y el valor experimental obtenido en la ejecución de los ensayos del método. El cálculo de la exactitud para el método de Walkley Black, se realizó a través de la determinación del porcentaje de recuperación, para lo cual usamos el resultado del porcentaje de materia orgánica obtenido del análisis de la muestra enviada a un laboratorio acreditado en el método de determinación de materia orgánica por Walkley Black (valor verdadero) y el valor promedio del porcentaje de materia orgánica entre todos los resultados obtenidos en el laboratorio 10 análisis al día, por 5 días distintos (valor experimental).

PARAMETRO	RESULTADO
Valor verdadero	1.77
Valor experimental	1.55

Tabla V. Resultado valor verdadero y valor experimental. Fuente: Elaboración propia.

El cálculo se realizó según la siguiente ecuación (Ramos, 2015):

$$\% \text{ recuperación} = \frac{\text{Valor}_{\text{experimental}}}{\text{Valor}_{\text{verdadero}}} * 100$$

$$\% \text{ recuperación} = \frac{1.55}{1.77} * 100$$

$$\% \text{ recuperación} = 87.57\%$$

El valor del porcentaje de materia orgánica aceptado como valor verdadero proviene del resultado enviado por la Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A. ubicado en Rigoberto Heredia Oe 6-141 y Huachi. Quito Ecuador. (Anexo 1).

2.11.2. Cálculo del Límite de Detección:

Es la mínima cantidad que se puede detectar en las muestras analizadas. El cálculo se realizó en base a 10 blancos realizados en el laboratorio, por el mismo analista en un mismo día, para ello se procede a calcular la media (ec. 8) y la desviación estándar (ec. 9) de estos datos, los resultados obtenidos se pueden apreciar en la tabla VI.

$$\bar{x} = \frac{\sum \%MO \text{ de } 10 \text{ blancos}}{10}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\%MO_{\text{blanco}} - \%MO_{\text{blanco}})^2}{10}}$$

CALCULO	RESULTADO
Media	0.00
Desviación Estándar	0.0189

Tabla VI. Resultado Media y Desviación estándar para Blancos. Fuente Elaboración Propia

Luego de obtener la media y la desviación estándar del %MO para los 10 blancos realizados, se calcula el límite de detección para el método usado empleando la ec. 15 y con un valor de $k = 3$ según (Eurolab, 2016).

$$x_L = 0.00 + 3 * 0.0189$$

$$x_L = 0.0567$$

2.11.3. Cálculo del Límite de Cuantificación:

Es la mínima cantidad que se puede cuantificar en las muestras analizadas presentando una precisión y exactitud aceptables en el resultado. El cálculo se realizó en base a 10 blancos analizados. Se utilizó el cálculo antes obtenido de la media y la desviación estándar del porcentaje de materia orgánica para los blancos (Tabla VI), así como la ecuación para el límite de cuantificación (ec. 16).

$$L_Q = K_Q \sigma_Q$$

$$L_Q = 10 * 0.0189$$

$$L_Q = 0.189$$

2.11.4. Cálculo de Repetibilidad:

En la tabla VII se expresa el resultado de la repetibilidad presentada en el método. La repetibilidad hace referencia a los resultados obtenidos en el laboratorio usando el



mismo método, en el mismo día, realizado por el mismo analista, usando los mismos equipos, reactivos y mismos materiales.

Para realizar el cálculo de repetibilidad se obtiene la media y la desviación estándar de los 10 resultados de cada día, columnas (Tabla IV), luego con estos resultados se obtiene el coeficiente de variación por día, finalmente el promedio del coeficiente de variación para darnos el valor de la repetibilidad del método.

PARAMETRO	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5
\bar{x}	1.5560	1.5627	1.5424	1.5361	1.5527
S	0.0262	0.0385	0.0233	0.0307	0.0497
%CV	1.6824	2.4667	1.5129	1.9961	3.2010
Repetibilidad	2.172				

Tabla VII. Resultado de la Repetibilidad. Fuente: Elaboración propia.

2.11.5. Cálculo de Reproducibilidad:

La tabla VIII presenta el resultado de la Reproducibilidad que presenta el método. Para la obtención del resultado se calculó la media y desviación estándar de un conjunto de datos en filas (Tabla IV) en 5 días diferentes tomándolos en orden de cada corrida, 10 por día.

Obtenidos estos valores se calculó el coeficiente de variación para cada grupo de resultados y finalmente obtenemos un promedio del coeficiente de variación, dándonos el valor de reproducibilidad que el método presenta.

	\bar{x}	S	%CV
s1	1.5428	0.0444	2.879
s2	1.5560	0.0280	1.800
s3	1.5427	0.0185	1.199
s4	1.5426	0.0295	1.913
s5	1.5426	0.0382	2.479
s6	1.5492	0.0180	1.165
s7	1.5893	0.0367	2.310
s8	1.5689	0.0372	2.368
s9	1.5494	0.0298	1.922
s10	1.5163	0.0379	2.501
Reproducibilidad	2.054		

Tabla VIII. Resultado de la Reproducibilidad. Fuente: Elaboración propia.



2.11.6. Cálculo de la Linealidad:

El cálculo de la linealidad en esta metodología no aplica, debido a que el método no tiene la capacidad de obtener resultados analíticos proporcionales a la concentración del analito.

2.11.7. Cálculo del Error Relativo Porcentual:

De la ec. 14 y la tabla V se obtiene el resultado del error relativo porcentual siendo este valor, menor al objetivo de la validación planteado.

$$\% \varepsilon_r = \frac{|1.55 - 1.77|}{1.77} * 100 \quad \% \varepsilon_r = \mathbf{12.43}$$



CAPITULO 3

3.1. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos de la validación del método se detallan en la Tabla XI.

3.1.1. Límite de Detección y Cuantificación:

El límite de detección y límite de cuantificación se refieren a la concentración o cantidad más pequeña que puede determinarse estadísticamente.

En el caso de esta investigación para el cálculo del límite de detección se realizó el análisis de 10 blancos, usando un valor de $k = 3$, dando un resultado de 0,0567.

Para realizar el cálculo del límite de cuantificación se analizó 10 blancos con un valor de $k = 10$ dando como resultado 0,189.

El valor del límite de detección es menor a 0,5%, y el de cuantificación es menor a 1%, en este caso los dos valores cumplen con los criterios fijados como objetivos de esta validación.

Los resultados obtenidos para ambos límites fueron valores bajos, lo que significa que el método utilizado para la determinación de materia orgánica es bastante sensible permitiéndonos cuantificar suelos que contengan un porcentaje de materia orgánica mayor al 1%.

3.1.2. Exactitud

Para determinar la exactitud del método se tomó el resultado del porcentaje de materia orgánica proveniente de Corplabec S.A. laboratorio acreditado (anexo 1) en el método de Walkley Black de análisis de suelo, valor tomado como valor real o verdadero, y en el promedio de los 50 análisis realizados en el laboratorio 10 veces por día durante 5 días, valor medido o experimental. Con estos dos valores obtuvimos el porcentaje de recuperación siendo el resultado igual a 87,57%.

El porcentaje de recuperación obtenido está dentro del rango de criterio establecido en el objetivo para la aceptación de la validación que va del 85% al 105% según la bibliografía.

3.1.3. Precisión:

El cálculo de la precisión se determinó a través del valor F (Fisher), el mismo que fue obtenido mediante la determinación experimental, donde se comparó el valor F tabulado para un nivel de confianza del 95%. El análisis de la varianza (ANOVA),

realizado en este trabajo, permitió determinar si las medias presentan o no diferencias significativas, para lo cual se plantearon las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula (H_0):** Todas las medias son iguales. Se consideró como factor el tiempo y como nivel los 5 días.
- **Hipótesis alternativa (H_1):** Al menos una media es diferente.

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
DIA 1	10	15.5596718	1.55596	0.0006853
DIA 2	10	15.6265506	1.56265	0.0014859
DIA 3	10	15.4242664	1.54242	0.0005445
DIA 4	10	15.3608595	1.53608	0.0009401
DIA 5	10	15.5270858	1.55270	0.0024703

Tabla IX. Análisis ANOVA. Fuente: Elaboración propia.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>F_{calculada}</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>F_{tabulado}</i>
Entre Grupos	0.92647	0.457068	2.57873

Tabla X. Resultados análisis ANOVA. Fuente: Elaboración propia.

El valor de F calculado 0,92647 es menor al valor de F tabulado 2,57873 (El valor de F critico está en función del grado de significancia $\alpha=0,05$ considerando los grados de libertad entre grupos) lo cual indica que no existen diferencias significativas en las medias de la muestra analizada.

El resultado de la probabilidad en la prueba de ANOVA, Tabla X, que indica aquel valor de α a partir del cual el ANOVA no detectaría ninguna diferencia significativa, nos da un valor mayor a 0,05 probabilidad = 0,457068 (a menor valor de probabilidad, mayor seguridad de que existen diferencias significativas) lo que nos indica que no existen variaciones significativas dentro del promedio de los 10 ensayos realizados en los 5 días de trabajo aceptando la hipótesis nula (H_0) en la que las medias muestrales son iguales.

Con respecto al porcentaje del coeficiente de variación de la repetibilidad se obtiene un valor de 2.172 que es menor al objetivo propuesto en los criterios de aceptación del método. De igual manera el porcentaje del coeficiente de variación de la reproducibilidad es menor al objetivo propuesto dándonos un valor de 2.054.

En la tabla XI se observan los resultados obtenidos durante el desarrollo del método frente a los objetivos propuestos en la validación de la metodología.

Parámetro	Resultado Obtenido	Objetivo para Validación
Límite de detección	0.0567	0.5
Límite de cuantificación	0.1890	1,0
Exactitud (% recuperación)	87.57 %	85 - 105%
Error Relativo Porcentual	12.43%	≤ 26%
Repetibilidad	2.172 %	%CV ≤ 10%
Reproducibilidad	2.054 %	%CV ≤ 10%

Tabla XI. Comparación de Objetivos con Resultados Obtenidos. Fuente: Elaboración propia

3.1.4. Clasificación del suelo:

Según la clasificación realizada por (Rivadeneira, 2011) para suelos de la Sierra Ecuatoriana en la tabla XII, podemos clasificar al suelo de donde se obtuvo la muestra para nuestro análisis, como un suelo con un contenido de materia orgánica bajo, dado que el promedio del porcentaje de materia orgánica de los 50 ensayos realizados es 1.55 %. Este valor está en un porcentaje menor a 2 %.

RANGO	DESCRIPCION
< 1	Muy bajo
1 – 2	Bajo
> 2 - < 4	Medio
4 – 10	Alto
> 10	Muy alto

Tabla XII. Clasificación del suelo según el contenido de materia orgánica.

Fuente: Rivadeneira, 2011.



CAPITULO 4

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

4.1. Conclusiones:

El porcentaje de recuperación que determina la exactitud del método es del 87,57 %, que está dentro del rango que va del 85% al 105%, por lo que cumple con el objetivo del criterio de aceptación planteado para la validación del método.

El valor del límite de detección 0,0567 % y el de cuantificación 0,189 % además de ser valores bajos, cumplen con el objetivo de los criterios de aceptación de la validación. Esto nos indica que el método es bastante sensible, permitiéndonos cuantificar suelos con un contenido de materia orgánica mayores al 1 %.

El cálculo del porcentaje del coeficiente de variación para la repetibilidad es de 2.172 % y de reproducibilidad de 2.054 % en los dos casos cumplen con el objetivo de los criterios de aceptación propuestos para la validación.

Al obtener un valor de F calculado menor al valor de F tabulado en el análisis de la varianza ANOVA, nos permite aceptar la hipótesis nula en la que nos indica que no existen variaciones significativas en las medias de la muestra analizada.

En consecuencia, el método es validado con éxito.

Se realizó un procedimiento específico de ensayo detallado en el ANEXO III. El cual permitirá el correcto manejo y desarrollo del método dentro del Laboratorio de Suelos de la Universidad de Cuenca.

4.2. Recomendaciones:

Dado que el Sulfato Ferroso Amónico hexahidratado (Sal de Mohr) reduce notablemente su potencial reductor en presencia del oxígeno atmosférico, es imprescindible valorar la solución inmediatamente antes de su uso.

La oxidación que se produce en este análisis es violenta y desprende grandes cantidades de vapores, por lo que se recomienda realizar el ensayo bajo una campana extractora de gases y con protección adecuada. Se recomienda el uso de mandil de laboratorio, guantes de nitrilo para la manipulación de los reactivos así como gafas protectoras y mascarilla.

La concentración del H_2SO_4 no debe ser menor del 96 % p/p ya que dentro del rango del 90 al 99% existe un incremento casi lineal de recuperación del carbono orgánico



del 1% por cada porcentaje de incremento en la concentración del ácido (Carreira, 2011).

La coloración de la solución antes de iniciar la valoración suele ser parda oscura, aunque en suelos con contenidos altos de materia orgánica suele presentar con tonos verdosos. Se recomienda en este caso reducir el peso de la muestra a la mitad (NOM-0021-RECNAT-2000).

Se recomienda guardar las soluciones de sulfato ferroso amoniacal y la de dicromato de potasio en un frasco de vidrio color ámbar manteniéndolas en un ambiente fresco y al resguardo de la luz directa. En estas condiciones las soluciones pueden ser usadas hasta un mes luego de ser preparadas.

El porcentaje de materia orgánica en la muestra de suelo con el pasar del tiempo disminuye lentamente por lo que se recomienda hacer los análisis a la brevedad posible luego de recolectada la muestra.

Realizar un análisis de incertidumbre de las fuentes que influyen en el método tales como materiales, reactivos, analista, medio ambiente, etc.



BIBLIOGRAFÍA

- Aleman, I., Guido, F. (2016). Comparación de dos técnicas para la Determinación de carbono orgánico del suelo, En el LAFQA departamento de química. UNAM Managua. 2015.
- Alihuen. (2008). Qué es el suelo. disponible en URL: <http://www.alihuen.org.ar/eco-chicos/que-es-el-suelo-2.html>.
- Allison, L.E., 1965. Organic Carbon. In: C. A. Black. Methods of soil analysis. Chemical and microbiological properties. Number 9 (Part 2) in the series Agronomy. Madison, Wisconsin USA. Pp: 1367-1378.
- Arriola, L. (2012). Validación de métodos Analíticos, fisicoquímicos y Microbiológicos. Guatemala, 11 de septiembre de 2012.
- Arvensis Agro. (Abril de 2014). *Arvensis Agro S.A.* Obtenido de <https://www.arvensis.com/blog/el-suelo-salinidad-y-alcalinidad/>
- Barreira, E. (1978). Fundamentos de Edafología para la agricultura. Disponible en: https://www.passeidireto.com/arquivo/6144487/manual_de_edafologia-jordan/39
- Benzing, A. 2001. Agricultura Organica. Fundamentos para la region andina. 1ª Edicion. Alemania. Editorial Neckar.
- Brady, N.C. & Weil, R.R. (2002). The nature and properties of soils. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey.
- Broadbent, F.E., 1953. The sou organic fraction. *Advan. Agron.* 5, 153-183.
- Capelluto, M. (Junio de 2015). *Revista Iberoamericana de Derecho Ambiental y Recursos Naturales*. Obtenido de La Conservación del Recurso Natural Suelo en Argentina: <http://www.pensamientocivil.com.ar/system/files/2015/07/Doctrina1477.pdf>
- Carreira, D. (2011). Cuantificación de la Materia Orgánica del suelo. Método de WALKLEY & BLACK.
- Castañeda, B. (1996). Fundamentos de Estadística. Programa de control de la Calidad y Desarrollo de Laboratorios. Lima, Perú.: OPS/CEPIS/PUB/96.19.
- Cortiza, A. (2014). *Determinación del contenido de materia orgánica en suelos pardo con carbonatos y el empleo de la tecnología VIS/NIR para su correlación*. Santa Clara, Cuba: UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS.
- Crubellati, R., Di Risio, C. (2009). Aspectos prácticos de la validación e incertidumbre en medidas químicas. CYTED. Argentina.
- Eyherabide, M., Saíenz Rozas, H., Barbieri, P., & Echeverría, H. (2014). Comparación de métodos para determinar carbono orgánico en suelo. *Asociacion Argentina Ciencia del Suelo*.
- Eurachem. (1998). The Fitness for Purpose of Analytical Methods. Disponible en URL: <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>
- Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.orgFAO. (1996).



Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/006/W1309S/w1309s04.htm>

FAO. (2018). *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentacion y la Agricultura.* Obtenido de <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/es/>

FAO. (2018). *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentacion y la Agricultura.* Obtenido de <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-fisicas/es/>

FAO. (2018). *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentacion y la Agricultura.* Obtenido de <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-biologicas/es/>

Fassbender, W., & Bornemisza, E. (1987). Química del suelo con énfasis en suelos de América Latina. San Jose, Costa Rica, IICA, Serie de libros y materiales educativos.

García, J., & Ballesteros, M. (2005). Evaluación de parámetros de calidad para la determinación de carbono orgánico en suelos. *Revista Colombiana de Química*, 34(2), 6- 7.

Hernandez, J.C. (2013). *Edafología y Fertilidad*. Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia.

Ibáñez, J. (2006). Madrid. Influencia de la materia orgánica sobre las propiedades físicas del suelo. Disponible en URL: <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2006/04/04/17409>

Jaramillo, D. (2001). *Introducción a la Ciencia del Suelo*. Universidad Nacional de Colombia, Escuela de Geociencias. Medellín

Jaramillo, D. (2003). *Introducción a la Ciencia del Suelo*. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Jackson, M. (1958). *Soil Chemical Analysis*. Englewood, New Jersey: Prentice-Hall.

Jackson, M.L., (1964). *Análisis químico de suelos* (Traducido por J. Bertrán). Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 662 p.

Martinez, E. (2008). *Carbono organico y propiedades del suelo*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción.

Matallana, A. (2015). *Validacion de tecnicas analiticas*. Instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos. 2015.

Mendez, E. (2016). *Validacion del metodo analitico Walkley y Black de materia organica en suelos arcillosos, francos y arenosos del Ecuador*. Universidad del Central Ecuador.

Miller, J. N. (2010). *Statistics and Chemometrics For Analytical Chemistry*. England: © Pearson Education Limited 2000, 2010.

Monic, V. (2003). *Determinación del contenido de materia orgánica en suelos guatemaltecos por medio de la técnica de reflectancia con espectroscopía de infrarrojo cercano*. Tesis Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, 2003.

Moron, A.; Martino D.; Sawchik, J.: *Manejo y fertilidad del suelo*, Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA, Uruguay, Disponible en: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219240807135249.pdf>

Nelson, D.; Sommers, L. (1996). Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: *Methods of Soil Analysis*. Sparks D L (ed.), Part 3. SSSA Book Series 5. Soil Sci Soc Am USA. 962-1008



- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Mexico.
- NTC 5403. Norma Técnica Colombiana. Calidad de suelo. Determinación del carbono orgánico. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Apartado 14237 Bogotá, D.C. Editada 2006-03-08.
- Pellini, C. (2014). Historias y Biografías. Obtenido de https://historiaybiografias.com/ciclo_carbono/
- Picone, L.I. (2006). Propiedades del suelo relacionadas con la fertilidad. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Ramos, C. Ramos, I. (2015). Validación e implementación de una metodología para la determinación de carbono orgánico total en suelos y sedimentos según ISO 14235:1998. Revista Politécnica ISSN 1900-2351.
- Rivadeneira, G. (2011). Zonificación Agroecológica del cultivo de papa (*Solanum Tuberosum*) en el centro norte de la sierra ecuatoriana. Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. ESPE-IASA I. Sede El Prado.
- Rojas, C. & Sierra, C. (2005). La materia orgánica y su efecto en las características físico-químicas y biológicas del suelo.
- Rojas, S., Duffau, B. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos". Chile.
- Rosell, R. A. (1999). Materia Orgánica, fertilidad del suelo y productividad de cultivos. Chile: Proced XIV congreso Latinoamericano de la ciencia del suelo.
- Rosell, R.A.; Gasparoni, J.C. & Galantini, J.A. 2001. Soil organic matter evaluation. En: R Lal; J Kimble; R Follett & B Stewart (eds). Assessment Methods for Soil Carbon. Lewis Publishers, USA. Sanchez, J. (2007). *Fertilidad del Suelo y Nutrición*. Obtenido de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FERTILIDAD%20DEL%20SUELO%20Y%20NUTRICION.pdf>
- Varvel, G.E. 1994. Rotation and nitrogen fertilization effects on changes in soil carbon and nitrogen. Agron. J. 86:319-325.
- Vulca, A.; L. Meneses; R. Blas; S. Bello: "La materia orgánica importancia y experiencia de su uso en la agricultura", IDESIA, 24: 49-61, 2006.
- Zagal, E., Rodríguez, N., Vidal, I., & Flores, B. (2002). La fracción liviana de la materia orgánica de un suelo volcánico bajo distinto manejo Agronómico como índice de cambios de la materia orgánica lábil. Chile: Agricultura Técnica, Ciencia del suelo.
- Zumbado, H. (2004). Análisis químico de los alimentos métodos clásicos. Universidad de la Habana, Instituto de farmacia y alimentos. La Habana, Cuba.



Anexo I: Análisis de Suelo



ALS Ecuador

Rigoberto Heredia Oe6-157 y Huachi

Quito, Ecuador

T: +59 3 2341 4080

PROTOCOLO: 143457/2018-1.0	RU-49
SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN	Revisión: 11
	Página 1 de 2

NOMBRE DEL CLIENTE:	SEÑOR CRISTIAN GUAMÁN
DIRIGIDO EN ATENCIÓN A:	SEÑOR CRISTIAN GUAMÁN
NOMBRE DEL PROYECTO:	MONITOREO DE SUELO
DIRECCIÓN DEL PROYECTO:	GRANJA MUNICIPAL SAN ANTONIO / GUALACEO / AZUAY
MUESTREO REALIZADO POR:	EL CLIENTE
PROCEDIMIENTO MUESTREO:	NO REPORTADO POR EL CLIENTE
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS:	MARZO, 29 DEL 2018 / 10:25 / N° CADENA DE CUSTODIA: 0020019
LUGAR DE ANÁLISIS:	CORPLABEC S.A. / QUITO - RIGOBERTO HEREDIA OE6-157 Y HUACHI
FECHA DE ANÁLISIS:	MARZO 29 AL 09 DE ABRIL DEL 2018
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	09 DE ABRIL DEL 2018

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

MATRIZ	SUELO					
	CÓDIGO DE LABORATORIO	CÓDIGO DE MUESTREO	REFERENCIA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	COORDENADAS UTM WGS 84
	15851	S1	Suelo	22/12/2017	No reportado por el cliente	No reportado por el cliente
						Ninguna Observación

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES

Laboratorio de Ensayo ALS acreditado por el SAE con Acreditación N° OAE LE 2C 05-005.

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación del SAE.

SM - Standard Methods.

EPA - Environmental Protection Agency.

Los resultados solo se refieren a las muestras analizadas. ALS declina toda responsabilidad por el uso de los resultados aquí presentados.

"Si las condiciones de muestreo fueron controladas según los Procedimientos Correspondientes establecidos por ALS, éstas no inciden en los resultados que se describen en el presente informe".

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de ALS.

Sin la firma del Responsable Técnico y el sello de ALS, este informe no es válido.



Msc. Quim. Silvia Escobar
Coordinadora Informes ALS



ALS Ecuador
Rigoberto Heredia Oe6-157 y Huachi
Quito, Ecuador
T: +59 3 2341 4080

PROTOCOLO: 143457/2018-1.0	RU-49
SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN	Revisión: 11
	Página 2 de 2

RESULTADOS OBTENIDOS

PARÁMETROS ANALIZADOS	METODOLOGÍA DE REFERENCIA	MÉTODO INTERNO ALS	UNIDAD	15861	INCERTIDUMBRE (K=2)
				S1	
MATERIA ORGÁNICA(*)	Primo Yúfera, Química Agrícola I, Método Walkley Black, 1934	PA - 35.00	%	1,77	± 0,05 %



Anexo II: Fotos

Muestreo.



1



2



3. Corte de suelo en V.

Preparación de Muestra y Reactivos.



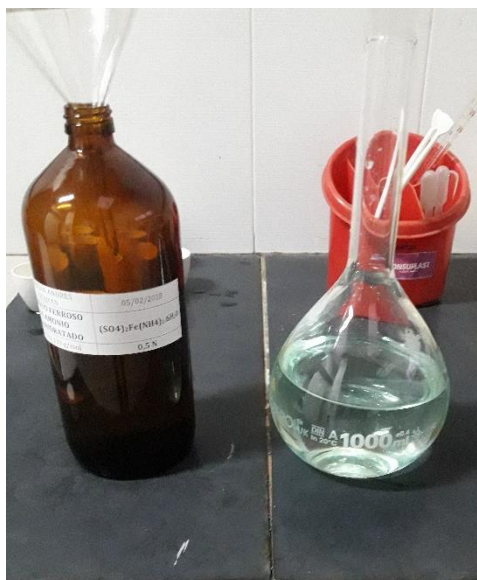
4. Mallas usadas para tamizaje
ASTM N° 4, 8, 12, 20, 40



5. Balanza Analítica (Precisión 0,0000)



6. Preparación de $K_2Cr_2O_7$ 1N.

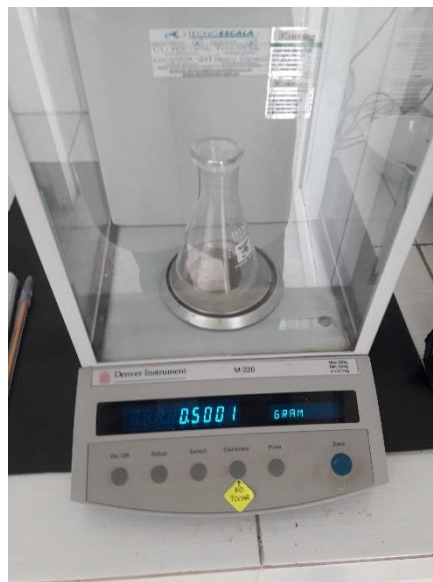


7. Preparación Sulfato Ferroso Amónico
0,5 N.

Procedimiento.



1. Pesaje de muestra.



2. Adición de $K_2Cr_2O_7$.



3. Adición de H_2SO_4 .

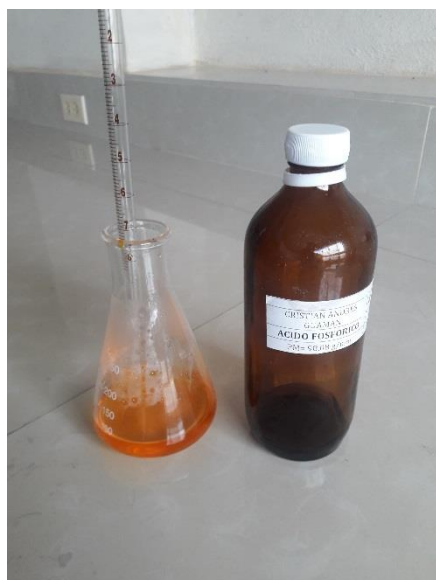


4. Adición de Agua Destilada.



5. Muestras para titulación.

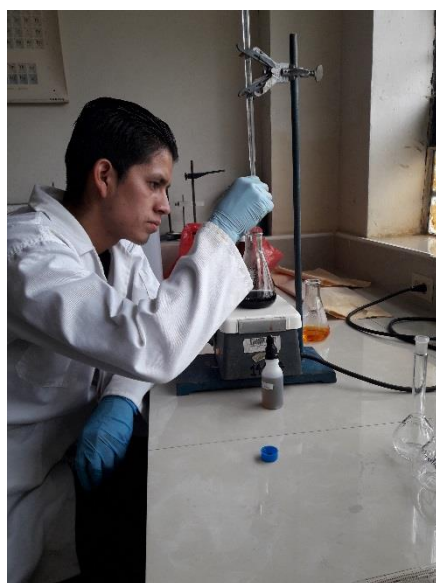
Titulación.



6. Adición de H_3PO_4 .



7. Adición del indicador Difenilamina.



8. Titulación con Sal de Mohr.



9. Coloración inicial y final en el análisis.



10. Coloraciones obtenidas durante titulación.



Anexo III: Documento de Acreditación de la Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.



**SERVICIO DE ACREDITACIÓN
ECUATORIANO - SAE**

ALCANCE DE ACREDITACIÓN

**Corporación de Laboratorios Ambientales
del Ecuador. Corplabec S.A.**

Rigoberto Heredia Oe 6-141 y Huachi
• Teléfono: 259 9280 • E-mail: Miguel.Maliza@alsglobal.com
Quito - Ecuador

**Sector
Ensayos**

Certificado de Acreditación N°: **OAE LE 2C 05-005**
Actualización N°: **14**
Resolución N°: **SAE-ACR-0071-2016**
Vigencia a partir de: **2016-11-30**
Acreditación Inicial: **2005-12-19**
Responsable(s) Técnico(s): **Quím. Miguel Elías Maliza Verdesoto**

Está acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) de acuerdo con los requerimientos establecidos en la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración", los Criterios Generales de Acreditación para laboratorios de ensayo y calibración (CR GA01), Guías y Políticas del SAE en su edición vigente, para las siguientes actividades:

CATEGORÍA: 0. Ensayos en el laboratorio permanente

CAMPO DE ENSAYO: Ensayos Físico – químicos en aguas

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Nitritos, Espectrofotometría UV-Vis, (0,01 a 0,11) mg/l	PA-13.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500NO2-B
	Cloro libre, Espectrofotometría UV-Vis, (0,05 a 16,00) mg/l	PA-02.00 Métodos de referencia: Standard Methods, Ed.22.2 012 4500-Cl A y 4500-Cl G
	Fosfatos, Espectrofotometría UV-Vis, (1,23 a 196,30) mg/l	PA-49.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500 – P B y 4500-P C.
	Fósforo, Espectrofotometría UV-Vis, (1 a 160) mg/l	PA-49.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500 – P B y 4500-P C.
	Color, Espectrofotometría UV-Vis, (5,51 a 153) mg/l	PA-75.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012, 2120 C.
	Aceites y grasas, Gravimetría, (20 a 1 000) mg/l	PA-43.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 5520B

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en el web www.acreditacion.gob.ec

F PA01 01 R02

Página 1 de 13

Servicio de Acreditación Ecuatoriano
 Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
 Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Metales, Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama, Zinc (Zn), (0,05 a 2,5) mg/L	PA-19.00 Método de referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Bario (Ba), (0,5 a 10) mg/l	PA-22.00 Método de referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111D
	Hierro (Fe), (0,2 a 2,5) mg/l	PA-20.00 Método de referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Cobalto (Co), (0,1 a 1,0) mg/l	PA-24.00 Métodos de Referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed. 22. 2012 3111-B
	Cobre (Cu), (0,1 a 2,5) mg/l	PA-25.00 Métodos de Referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111-B
	Aluminio (Al), (0,25 a 5,0) mg/l	PA-27.00 Métodos de Referencia EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111-D
	Vanadio (V), (0,5 a 15) mg/l	PA-21.00 Métodos de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 3111D
	Cadmio (Cd) (0,02 a 1,0) mg/l	PA-07.00 Método de Referencia: EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed. 22, 2012 3111 B
	Plomo (Pb) (0,1 a 2,5) mg/l	PA-09.00 Método de Referencia: EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed. 22, 2012 3111 B
	Níquel (Ni) (0,05 a 2,5) mg/l	PA-08.00 Método de Referencia: EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed. 22, 2012 3111 B
	Cromo Total (Cr) (0,05 a 5,0) mg/l	PA-18.00 Método de Referencia: EPA 3010A, Rev. 01, 1992 Standard Methods, Ed. 22, 2012 3111 B

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 2 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación OAE LE 2C 05-005
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Mercurio, Espectrofotometría de Absorción. Vapor frío. (2 a 14) ug/l	PA-57.00 Método de Referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 3112B
	Sólidos sedimentables, Volumetría, (0,5 a 51,6) ml/l	PA-46.00 Método de Referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 2540 A y 2540 F
	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅), Winkler, Electrometría, (4,75 a 15 000) mg/l	PA-45.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 5210 B
	Nitratos, Espectrofotometría UV-Vis, (1 a 200) mg/l	PA-48.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 4500-NO ₃ ⁻ E
	Hidrocarburos Totales de petróleo (TPHs), Cromatografía de Gases, (0,15 a 40) mg/l	PA-10.00 Método de Referencia TNRCC Method 1005 ¹ Rev. 03, junio 2001
	Demanda Química de Oxígeno, Rango Bajo Reflujo Cerrado, Espectrofotometría UV-VIS, (10 a 300) mg/l	PA-01.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 5220-D
	Demanda Química de Oxígeno (DQO), Rango Alto, Reflujo cerrado, Espectrofotometría UV-Vis, (150 – 75 000) mg/l	PA-32.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 5220 A y 5220-D
	pH, Electrometría, (4 a 10) unidades de pH	PA-05.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 4500-H ⁺ A y 4500 H ⁺ B
	Conductividad, Electrometría, (20 a 13 000) µS/cm	PA-06.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 2510 A y 2510 B.
	Cromo VI Espectrofotometría UV-VIS, (0,05 a 1) mg/l	PA-11.00 Método de referencia Standard Methods, Ed. 22. 2012 3500-Cr A y 3500-CrB
	Sólidos Totales, Gravimetría, (20 a 40 000) mg/l	PA-14.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 2540 A y 2540 B
	Sólidos Totales Suspendidos, Gravimetría, (10 a 1000) mg/l	PA-16.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 5540-C

¹TNRCC: Texas Natural Resource Conservation Commission, actualmente Texas Commission on Environmental Quality

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
 Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
 Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Sólidos Totales Disueltos, Gravimetría, (20 a 40000) mg/l	PA-15.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 2540 A y 2540 C
	Sulfatos, Espectrofotometría UV-Vis, (5,0 a 500) mg/l	PA-17.00 Método de Referencia: EPA 375.4 SO ₄ -2, 1978
	Tensoactivos, Espectrofotometría UV-Vis, (0,1 a 1,0) mg/l	PA-12.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 5540 A y 5540 C
	Oxígeno Disuelto, Volumetría, (1,0 a 8,0) mg/l	PA-34.00 Método de Referencia Standard Methods, Ed. 22. 2012 4500-O A y 4500-O C
	Nitrógeno Amoniacal, Espectrofotometría UV-Vis, (0,25 a 25) mg/l	PA-30.00 Método de Referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 4500 NH ₃ – F.
	Fenoles Totales, Espectrofotometría UV-Vis, (0,005 a 1,600) mg/l	PA-33.00 Método de Referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 5530-A y 5530-C

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Sulfuros, Espectrofotometría UV-Vis, (0,3 a 5,0) mg/l	PA-58.00 Método de referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 4500-S ²⁻ A y 4500-S ²⁻ D
	Turbidez, Nefelometría, (4,0 a 80) NTU	PA-37.00 Método de referencia Standard Methods, Ed.22. 2012 2130 A y 2130 B
	Dureza total, Volumetría, (5,0 a 6 000) mg/l	PA-40.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 2340 A y 2340 C
	Cloruros, Volumetría, (20 a 50 000) mg/l	PA-44.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500 Cl- B
	Fluoruros, Volumetría, (0,1 a 1,3) mg/l	PA-55.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500-F ⁻ A y 4500-F ⁻ D

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 4 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Hidrocarburos policíclicos aromáticos, (HAPs), Cromatografía de Gases acoplado a Masas, Naftaleno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Acenaftileno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Acenafteno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Fluoreno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Fenantreno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Antraceno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Fluoranteno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Pireno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Benzo (A) Antraceno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Criseno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Benzo (B) Fluoranteno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Benzo (K) Fluoranteno (0,00025 a 0,0025) mg/l Benzo (A) Pireno (0,00025 a 0,0025) mg/l Indeno 1.2.3-CD Pireno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Dibenzo (A,H) Antraceno, (0,00025 a 0,0025) mg/l Benzo (G,H,I) Perileno, (0,00025 a 0,0025) mg/l	PA -31.00 Método de Referencia: EPA 8270 D,Rev.04, 2007

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 5 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas naturales Aguas residuales Aguas de consumo Lixiviados	Cianuro Libre Espectrofotometría UV-VIS (0,01 a 10) mg/l	PA-54.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-CN ⁺ C y 4500-CN ⁺ E
	Cianuro Total Espectrofotometría UV-VIS (0,01 a 10) mg/l	PA-54.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-CN ⁺ C y 4500-CN ⁺ E
	Cianuro WAD Espectrofotometría UV-VIS (0,01 a 10) mg/l	PA-54.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-CN ⁺ C y 4500-CN ⁺ E
	Aceites y Grasas Infrarrojo (0,20 a 40) mg/l	PA-51.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 5520 C
	Boro Espectrofotometría UV-VIS (0,3 a 80) mg/l	PA-96.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-B C
	Nitrógeno Total Kjeldahl Espectrofotometría UV-VIS (1,25 a 250) mg/l	PA-72.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-N _{org} - C

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas Naturales Aguas Residuales Aguas de Consumo Lixiviados	Metales Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama	PA-23.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B
	Plata (0,05 a 1,0) mg/l	EPA 3050 B, Rev. 02, 1996 EPA 7760 A, Rev. 01, 1992
	Manganeso, (0,05 a 2,5) mg/l	PA-56.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B EPA 3050 B, Rev. 02, 1996
	Estaño, (1,0 a 10,0) mg/l	PA-64.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B EPA 3050 B, Rev. 02, 1996

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada
en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 6 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
 Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
 Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

	<p>Metales Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama Generación de Hidruros,</p> <p>Arsénico (2 a 250) µg/l</p>	<p>PA-87.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3114 B</p>
<p>Aguas Naturales Aguas Residuales Aguas de Consumo Lixiviados</p>	<p>Pesticidas Organoclorados Cromatografía de Gases acoplado a Masas:</p> <p>Pesticidas Organoclorados Aldrin (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) beta-BHC (beta-Hexachlorocyclohexane) (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) gamma-BHC (Lindane, gamma-Hexachlorocyclohexane) (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) 4-4'DDE (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) 4-4'DDT (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Dieldrin (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Endosulfan I (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Endosulfan Sulfate (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Endrinaldehide (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Methoxychlor (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) Delta-BHC (0,005 a 0,025) mg/l</p> <p>Pesticidas Organoclorados (Aguas) 4-4'DDD (0,005 a 0,025) mg/l</p>	<p>PA-83.00 Método de Referencia: EPA 8270 D, Rev. 04, 2007. EPA 3510 C, Rev. 03, 1996</p>

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 7 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

Aguas Naturales Aguas de Consumo	Alcalinidad Volumetría, (20 a 5000) mg/l	PA-42.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 2320 B
-------------------------------------	--	---

CAMPO DE ENSAYO: Ensayos Microbiológicos en aguas

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas residuales Lixiviados	Coliformes Fecales Número Más Probable, NMP >1,8 NMP/100 ml Escherichia Coli Número Más Probable, NMP >1,8 NMP/100 ml Coliformes Totales Número Más Probable, NMP >1,8 NMP/100 ml	PA-66.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 9221 B, E y F
Aguas naturales Aguas de consumo	Coliformes Fecales Número Más Probable, NMP >1,1 NMP/100 ml Escherichia Coli Número Más Probable, NMP >1,1 NMP/100 ml Coliformes Totales Número Más Probable, NMP >1,1 NMP/100 ml	PA-66.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 9221 B, E y F
Aguas residuales Aguas naturales Aguas de consumo Lixiviados	Coliformes totales, Filtración por membrana, >10 UFC/100ml Coliformes fecales, Filtración por membrana, >10 UFC/100ml	PA-67.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed. 22. 2012 9221 E, 9222 A, B y D

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

CAMPO DE ENSAYO: Ensayos Físico – químicos en suelos y sedimentos

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Suelos Sedimentos	Carbono Orgánico Fácilmente Oxidable, Volumetría, (0,1 a 20)%	PA-35.00 Método de Referencia Walkley Black 1934
	Hidrocarburos Totales de petróleo (TPHs), Cromatografía de gases, (150 a 100000) mg/kg	PA-10.00 TNRCC ² Method 1005, Method 1005, Rev. 03, junio 2001
	pH, Electrometría, (2 a 14) unidades de pH	PA-05.00 Método de Referencia: EPA 9045 D, Rev. 04, 2004
	Conductividad eléctrica (CE), Electrometría, (6 a 40000) uS/cm	PA-06.00 Método de Referencia EPA 9050 A, Rev.1, 1996
	Boro Espectrofotometría UV-VIS (1,67 a 222,22) mg/kg	PA-96.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-B C
	Nitrógeno Total Kjeldahl Espectrofotometría UV-VIS (62,5 a 3125) mg/kg	PA-72.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500-N _{org} -C
	Metales Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama Generación de Hidruros Arsénico (0,1 a 12,5) mg/kg	PA-87.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3114 B
Suelos Sedimentos	Metales, Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama, Plata (Ag), (2,5 a 50) mg/kg	PA-23.00 EPA 3050B, Rev. 02, 1996 EPA 7760A, Rev. 01, 1992
	Cobalto (Co), (5,0 a 50) mg/kg	PA-24.00 Métodos de Referencia EPA 3050B, Rev.02, 1996 EPA 7200, Rev.0, 1986
	Cobre (Cu), (5,0 a 125) mg/kg	PA-25.00 Métodos de Referencia EPA 3050B, Rev.02, 1996 EPA 7210, Rev. 0, 1986
	Potasio (K), (2,5 a 125) mg/kg	PA-26.00 Métodos de Referencia EPA 3050B, Rev.02, 1996 EPA 7610, Rev. 0, 1986

²TNRCC: Texas Natural Resource Conservation Commission, actualmente Texas Commission on Environmental Quality

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 9 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

	Cadmio(Cd), (1,0 a 45) mg/kg	PA-07.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Niquel (Ni), (2,5 a 125) mg/kg	PA-08.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Plomo (Pb), (5,0 a 125) mg/kg	PA-09.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Zinc (Zn), (2,5 a 125) mg/kg	PA-19.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Bario (Ba), (25 a 500) mg/kg	PA-22.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111D
	Cromo Total (Cr), (2,5 a 250) mg/kg	PA-18.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Hierro (Fe), (10 a 125) mg/kg	PA-20.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111B
	Vanadio (V), (50 a 750) mg/kg	PA-21.00 Métodos de referencia: EPA 3050B, Rev.02, 1996 Standard Methods, Ed.22. 2012 3111D
	Mercurio (Hg), (0,1 a 7,0) mg/kg	PA-57.00 Método de referencia EPA 7471B, Rev. 02, 2007 Standard Methods, Ed.22. 2012 3112B
Suelos Sedimentos	Aluminio (12,5 a 250) mg/kg	PA-27.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B EPA 3050 B, Rev. 02, 1996 EPA 3010 A, Rev. 01, 1992
	Manganeso (2,5 a 125) mg/kg	PA-56.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B EPA 3050 B, Rev. 02, 1996

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada
en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 10 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

Suelos Sedimentos	Estaño (50 a 500) mg/kg	PA-64.00 Método de Referencia: Standard Methods; Ed.22, 2012; 3111 B EPA 3050 B, Rev. 02, 1996
	<p>Hidrocarburos policíclicos aromáticos, (HAPs), Cromatografía de Gases acoplado a Masas,</p> <p>Naftaleno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Acetanaftileno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Acetanafteno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Fluoreno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Fenantreno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Antraceno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Fluoranteno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Pireno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Benzo (a) antraceno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Criseno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Benzo (b) fluoranteno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Benzo (K) fluoranteno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Fluoranteno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Benzo (a) pireno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Indeno (1,2,3 cd) pireno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Dibenzo (a,h) antraceno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p> <p>Benzo (g,h,i) perileno, (0,625 a 6,25) mg/kg</p>	<p>PA- 31.00 Método de Referencia EPA 8270D, Rev. 04, 2007 PA- 31.00 Método de Referencia EPA 8270D, Rev. 04, 2007</p>

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec

F PA 01 01 R02

Página 11 de 13



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

CATEGORÍA 1: Ensayos in situ**CAMPO DE ENSAYO:** Ensayos Físico – Químicos en Aguas

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Aguas de Consumo Lixiviados	Temperatura, Termometría, (0,0 a 80,0) °C	PA-47.00 Método de referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 2550B
	Cloro libre, Espectrofotometría visible, (0,50 a 4,00) mg/l	POS-24.00 Métodos de Referencia: EPA Method 330.5, 1978 Standard Methods, Ed.22. 2012 4500-Cl G
	pH, Electrometría, (4 a 10) unidades de pH	POS-25.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500 – H+ B
	Conductividad, Electrometría, (23 a 13 000) µS/cm	POS-26.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 2510 B.
	Oxígeno disuelto, in situ, Electrometría, (2,0 a 8,8) mg/l	POS-27.00 Método de Referencia: Standard Methods, Ed.22. 2012 4500-O G.

CAMPO DE ENSAYO: Ensayos Físico – Químicos de Emisiones Gaseosas de Fuentes Fijas a la Atmósfera

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Gases de combustión de fuentes fijas	Gases Contaminantes, Celdas Electroquímicas,	POS -21.00 Método de Referencia EPA CTM 030: 1997 EPA CTM 034: 1999
	Oxígeno (O ₂), (5,0 a 16,0) %	
	Monóxido de Carbono (CO), (9 a 996) ppm	
	Monóxido de Nitrógeno (NO), (9 a 1 448) ppm	
	Dióxido de Azufre (SO ₂), (90 a 985) ppm	
	Dióxido de Nitrógeno (NO ₂) (10 a 106) ppm	
	Material Particulado, Gravimetría (33 a 1 666) mg/m ³	POS-51.00 Método de Referencia: EPA 5 CFR Parte 60 Rev. 2004-07-01

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Alcance de Acreditación **OAE LE 2C 05-005**
Corporación de Laboratorios Ambientales del Ecuador. Corplabec S.A.

CAMPO DE ENSAYO: Acústica ambiental

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Ruido Ambiente	Ruido, Nivel de Presión Sonora Equivalente, (41 a 114) dB	POS- 19.00 Método de Referencia ISO 1996-2:2008 ISO 1996-1:2007
Ruido en Fuentes Móviles	Ruido en Fuentes Móviles Estacionario (40 a 114) dB	POS-59.00 Método de Referencia: ISO 5130: 2007 ISO 1996 – 1: 2007 TULSMA

CAMPO DE ENSAYO: Acústica Laboral

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
Ruido Ocupacional	Ruido Nivel de Presión Sonora Equivalente, Frecuencias de: (63, 125, 250, 500, 1k, 2k, 4k, 8k) Hz. (41 a 138) dB	POS-56.00 Método de Referencia: ISO 9612:2009 UNE-EN 458
	Dosimetría (79 a 120) dB	POS-60.00 ISO 9612: 2009 Acoustics — Determination of occupational noise exposure

Control de Cambios en Alcance

Fecha	Modificaciones
2015-07-23	Reevaluación más ampliación de alcance, mantener y otorgar la acreditación.
2016-11-30	Vigilancia 1, Mantener la Acreditación Ampliación de Alcance, Ampliar la Acreditación

La versión aprobada y más reciente de este documento puede ser revisada en la página web www.acreditacion.gob.ec



Anexo IV: Procedimiento Especifico de Ensayo

Se elabora un procedimiento específico de ensayo para la determinación de materia orgánica en una muestra de suelo bajo el proceso de validación realizado para el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

Documento: FCQ-LS-01 (Facultad de Ciencias Químicas – Laboratorio de Suelos - 01)

Revisión: 1

Valido desde: 25-Jul-2018

Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo Ochoa

El documento FCQ-LS-01 elaborado tiene como finalidad explicar la metodología para el análisis de materia orgánica en suelos, en donde se justifica la razón por la que debe realizarse el análisis, teniendo presentes los requisitos necesarios (reactivos, equipos, materiales), las instrucciones de cómo preparar las soluciones y como realizar el análisis en las muestras.

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

1. OBJETO:

Determinar el contenido de materia orgánica en una muestra de suelo por el método de Walkley Black.

2. ALCANCE:

El método es aplicable para la determinación de materia orgánica en porcentaje para toda muestra de suelo que reciba el laboratorio.

3. REFERENCIAS:

Carreira, D. (2011). Cuantificación de la Materia Orgánica del suelo. Método de WALKLEY & BLACK.

Jackson, M.L., (1964). Análisis químico de suelos (Traducido por J. Bertrán). Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 662 p.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Mexico.

Primo Yúfera E., Carrasco J. M. Química Agrícola I. Suelos y Fertilizantes. Editorial ALHAMBRA. Madrid – España 1934. Método Walkley Black.

Rivadeneira, G. (2011). Zonificación Agroecológica del cultivo de papa (*Solanum Tuberosum*) en el centro norte de la sierra ecuatoriana. Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. ESPE-IASA I. Sede El Prado.

Zumbado, H. (2004). Análisis químico de los alimentos métodos clásicos. Universidad de la Habana, Instituto de farmacia y alimentos. La Habana, Cuba.

4. GENERAL:**4.1. Definiciones:**

Materia Orgánica (MO): Es una larga serie de compuestos carbonados en diferentes estados de degradación y síntesis, provenientes de restos vegetales y animales y de la propia biota que en ella se desarrolla. En su concepción más restringida se asocia al término “humus”, donde los componentes originales ya no pueden ser identificados debido a que han sufrido una especial transformación “in situ”, fuertemente condicionada por la matriz del suelo.

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

Titulación / Valoración: Procedimiento operativo consistente en hacer reaccionar la sustancia que se cuantifica (analito) convenientemente disuelta en un disolvente adecuado, con una solución de concentración exactamente conocida que se adiciona desde una bureta.

Patrón Valorante: Solución de concentración conocida.

Analito: Sustancia a valorar.

Punto Estequiométrico / Punto de equivalencia: Punto donde se produce el viraje, es decir, cuando la cantidad de sustancias del equivalente del analito ha reaccionado completamente con una cantidad igual de sustancia equivalente del patrón valorante adicionado.

5. FUNDAMENTO TÉCNICO DEL ENSAYO:

El método está basado en la oxidación del carbono orgánico del suelo con una cantidad conocida de oxidante ($K_2Cr_2O_7$), transformándolo en CO_2 . La oxidación se genera por el calor producido de la mezcla del $K_2Cr_2O_7$ con el ácido sulfúrico concentrado en relación 2:1. Luego de un tiempo determinado de espera la mezcla es diluida con agua destilada y se adiciona ácido fosfórico para eliminar interferencias. El exceso de dicromato (cantidad de oxidante que no ha reaccionado) es luego valorado con una solución Ferrosa. En la reacción se considera que el dicromato reducido es equivalente al carbono orgánico existente en la muestra. Para expresar el resultado en porcentaje de materia orgánica se debe multiplicar el resultado obtenido por un factor de corrección debido a la combustión incompleta del Carbono.

6. EQUIPOS, MATERIALES Y SUMINISTROS:**6.1. Equipos:**

Balanza Analítica
Campana Extractora de Gases
Agitador Magnético
Cronómetro Digital

6.2. Reactivos:

Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$)
Ácido Sulfúrico (H_2SO_4)

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

Ácido Fosfórico (H_3PO_4)
Sulfato Ferroso Amónico [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]
Sulfato de Plata (Ag_2SO_4)

Fluoruro de Sodio (NaF)
Di fenilamina (C_6H_5)₂ HN

6.3. Suministros:

Tamices ASTM N° 4, 8, 12, 20, 40.
Balones de Aforo 1000 ml
Vasos de Precipitación 250 y 500 ml
Varilla de Vidrio
Piseta Plástica
Botellas ámbar de vidrio 1000 ml
Erlenmeyer de 250 ml
Pipetas de 5 y 10ml
Bureta 50 ml
Probeta de Vidrio
Gotero
Soporte Universal

7. PATRONES DE REFERENCIA O MATERIALES DE REFERENCIA:

No aplica

8. CONDICIONES AMBIENTALES:

Condiciones que presenta el entorno del laboratorio.

9. Descripción del ensayo:**9.1. Verificaciones previas**

Los reactivos deben ser de carácter analítico y el agua debe ser destilada y desionizada.

Solución 1 N de Dicromato de Potasio: Disolver en agua destilada 49,04 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y aforar en un matraz volumétrico a 1000 ml.

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

Ácido Sulfúrico concentrado (H_2SO_4) con una densidad de 1,84 g/ml. Adicionar 2.5 g de sulfato de plata por cada 100 ml de ácido sulfúrico.

Ácido fosfórico (H_3PO_4) del 85%.

Solución 0,5 N de Sulfato Ferroso Amónico: Se disuelve 196,1 g de Fe ($(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) en 800 ml de agua y 20 ml de H_2SO_4 concentrado, aforar a 1000 ml.

Indicador Difenilamina: Disolver 0,5 g de $(C_6H_5)_2HN$ en 20 ml de agua y añadir 100 ml de H_2SO_4 concentrado.

9.2. Preparación de la muestra

Realizar el muestreo de suelo del lugar que se desea conocer el contenido de materia orgánica. La muestra debe ser recolectada a una profundidad máxima de 20 cm del terreno en forma aleatoria y en zigzag de manera que la muestra recolectada proporcione las características propias que posee el terreno. Se debe recolectar mínimo 1 kg de muestra y almacenarla en funda plástica ziploc de forma que se evite una posible contaminación o alteración de la misma. Realizar un correcto etiquetado detallando el lugar, las condiciones ambientales que se presenten al momento de realizar el muestreo, responsable de la muestra, hora y fecha.

En el laboratorio la muestra debe ser identificada. Luego se deja secar por 48 horas en un lugar libre de contaminación sobre papel periódico limpio y seco. La muestra seca se pasa por un tamiz ASTM N° 40 y recolectada nuevamente en una funda plástica ziploc limpia y seca, se etiqueta la muestra quedando así lista para su posterior uso en el análisis.

9.3. Procedimiento:

Para la determinación de materia orgánica por el método de Walkley Black se sigue el siguiente procedimiento:

- Pesar 0,5 g de muestra seca al aire y tamizada por malla ASTM N°40 en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Dependiendo del color del suelo, mientras más oscuro sea, se pesa menor cantidad y viceversa.
- Con la ayuda de una pipeta y dentro de una campana extractora, adicionar 5 ml de la solución de dicromato de potasio 1N.
- Adicionar lentamente con una pipeta volumétrica 10 ml de ácido sulfúrico concentrado girando el matraz con cuidado de manera que la mezcla quede en contacto con todo el suelo y evitando que se adhiera a las paredes.

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

- d. Dejar reposar la mezcla por 30 minutos sobre una lámina de asbesto o madera evitando superficies de acero, cerámica o metal.
- e. Añadir 50 ml de agua destilada y desionizada.
- f. Añadir 5 ml de ácido fosfórico al 85%, 1 ml de NaF al 2,5% en peso y 3 gotas de indicador Difenilamina.
- g. Se realiza la titulación gota a gota desde una bureta con la solución de Sulfato Ferroso Amónico 0,5 N agitando constantemente. Para obtener una mejor homogenización se utiliza un agitador magnético.
- h. Al inicio de la valoración se tiene una solución de color pardo oscuro que variara por distintas tonalidades de azul durante la valoración hasta el punto final cambiando a color verde esmeralda.
- i. Anotar el volumen de sulfato ferroso amónico gastado en la valoración y proceder a realizar los cálculos.
- j. Se debe realizar un blanco siguiendo el proceso antes descrito pero sin muestra.

10. REGISTRO DE DATOS:

Para la recolección de datos se crea una tabla con la siguiente información:

Parámetro	Descripción
P	Peso de la muestra
B	Volumen sulfato gastado en la valoración del blanco
M	Volumen sulfato gastado en la valoración de la muestra
N	Normalidad solución de Sulfato Ferroso Amónico

La normalidad de la solución ferrosa (Sal de Mohr) es determinada al instante de realizar la valoración según la ecuación:

$$N = \frac{V}{B}$$

V = Volumen de dicromato de potasio agregado al blanco correspondiente

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO****Categoría:** Análisis de Suelo

Documento: FCQ-LS-01

Proceso: Determinación de Materia Organica

Revisión: 1

Método: Walkley Black

Valido desde: 25-07-2018

Elaborado por: Cristian Guamán**Aprobado por:** Mgst. Sonia Astudillo

	Determinación de Materia Orgánica Método: Walkley Black												
Analista:													
Fecha:	Muestra:												
<table border="1"><thead><tr><th><i>Parámetro</i></th><th><i>Valor</i></th></tr></thead><tbody><tr><td><i>B</i></td><td></td></tr><tr><td><i>M</i></td><td></td></tr><tr><td><i>P</i></td><td></td></tr><tr><td><i>N</i></td><td></td></tr><tr><td><i>% MO</i></td><td></td></tr></tbody></table>	<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>	<i>B</i>		<i>M</i>		<i>P</i>		<i>N</i>		<i>% MO</i>		OBSERVACIONES: Firma Responsable: _____
<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>												
<i>B</i>													
<i>M</i>													
<i>P</i>													
<i>N</i>													
<i>% MO</i>													

11. MEDIDAS DE SEGURIDAD:

La reacción de oxidación que se produce en esta determinación es violenta y desprende gran cantidad de vapores, razón por la cual se debe trabajar bajo campana extractora y con la protección adecuada.

Se recomienda el uso de mandil de laboratorio, guantes de nitrilo para la manipulación de los reactivos así como gafas protectoras y mascarilla.

12. INFORMES DE RESULTADOS, CÁLCULOS Y UNIDADES:**12.1. Cálculos y unidades:**

El cálculo en porcentaje de materia orgánica en la muestra de suelo se realiza según la ecuación:

$$\%CO = \frac{(B - M) * N * 0.39}{P}$$

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

Donde:

B = Volumen de sulfato ferroso amónico gastado en la valoración del blanco.

M = Volumen de sulfato ferroso amónico gastado en la valoración de la Muestra.

N = Normalidad del sulfato ferroso.

$$0.39 = \text{resulta de multiplicar } \frac{12}{4000} * \frac{1}{0.77} * 100$$

Donde $\frac{12}{4000}$ es el mili equivalente del carbono, $\frac{1}{0.77}$ es un factor de corrección ya que se supone que el método oxida solo el 77% de Carbono y se multiplica por 100 para llevar el resultado a porcentaje.

En la mayoría de los laboratorios se sigue usando el factor de Van Benmelen de 1.724 para estimar la materia orgánica a partir del Carbono orgánico, el cual resulta de la suposición de que la Materia Orgánica contiene un 58% de Carbono

Por tanto:

$$\%MO = \%CO * 1.724$$

12.2. Informe de resultados:

La cantidad de materia orgánica contenida en la muestra de suelo será informada al cliente en forma de porcentaje de materia orgánica (% MO).

El valor en porcentaje de materia orgánica puede ser comparado para la clasificación del suelo según su contenido de materia orgánica en la siguiente tabla.

RANGO	DESCRIPCION
< 1	Muy bajo
2	Bajo
> 2 - < 4	Medio
< 10	Alto
> 10	Muy alto

Clasificación del suelo según el contenido de materia orgánica.

Fuente: Rivadeneira, 2011.



PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO

Categoría: Análisis de Suelo	Documento: FCQ-LS-01
Proceso: Determinación de Materia Organica	Revisión: 1
Método: Walkley Black	Valido desde: 25-07-2018
Elaborado por: Cristian Guamán	Aprobado por: Mgst. Sonia Astudillo

13. RESPONSABLES:

El laboratorio de suelos se hace responsable del resultado obtenido de la muestra presentada por el cliente.